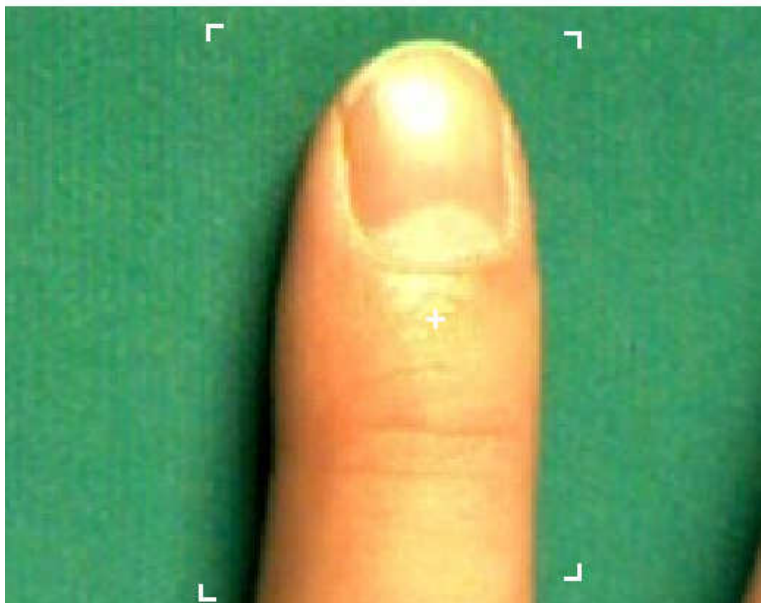
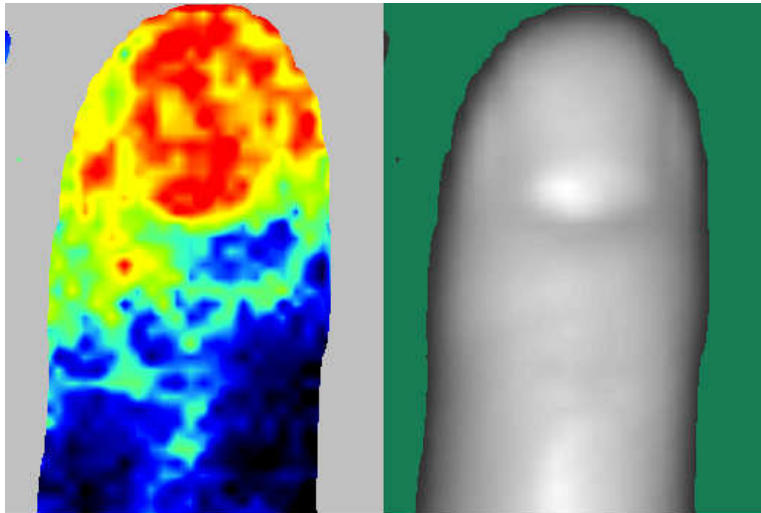


Bc. Iveta Bryjová

**Využití laserové dopplerometrie
v mikrovaskulární diagnostice**

Utilization of Doppler Laser in Diagnostics

DIPLOMOVÁ PRÁCE



VŠB – Technická univerzita Ostrava
Fakulta elektrotechniky a informatiky
Katedra kybernetiky a biomedicínského inženýrství

Využití laserové dopplerometrie v mikrovaskulární diagnostice

Utilization of Doppler Laser in Diagnostics

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Vedoucí: Ing. Marek Penhaker, Ph.D.

2012

Bc. Iveta Bryjová

VŠB - Technická univerzita Ostrava
Fakulta elektrotechniky a informatiky
Katedra kybernetiky a biomedicínského inženýrství

Zadání diplomové práce

Student: **Bc. Iveta Bryjová**
Studijní program: N2649 Elektrotechnika
Studijní obor: 3901T009 Biomedicínské inženýrství
Téma: **Využití laserové dopplerometrie v mikrovaskulární diagnostice**
Utilization of Doppler Laser in Diagnostics

Zásady pro vypracování:

1. Seznámení se s principem mikrovaskulárního diagnostického laseru.
2. Seznámení se zpracováním obrazu z přístroje pro mikrovaskulární diagnostiku.
3. Návrh a realizace metodiky zpracování obrazu za účelem zjištění progresu mikrocirkulace v léčebném procesu.
4. Testování metodiky na reálných datech.
5. Zhodnocení výsledků testů.

Seznam doporučené odborné literatury:

1. ROZMAN, J. *Lékařská přístrojová technika* 3. 1. vyd. Brno: VUT, Brno 1992. 72 s. ISBN 80-214-1667-X (brož.).
2. BRONZINO, J. D. *The Biomedical Engineering Handbook*. 1st Edition. CRC Press, 1995. 2896 s. ISBN 978-0849383465.
3. CARR, J. Joseph, John M. Brown. *Introduction to Biomedical Equipment Technology*. 4th Edition. Upper Saddle River, New Jersey(USA): Prentice Hall, 2000. 743 s. ISBN 0130104922.
4. SOJKA, Eduard. *Digitální zpracování a analýza obrazů*. 1. vyd. Ostrava: Technická univerzita Ostrava, 2000. 133 s. ISBN 80-7078-746-5 (brož.).

Formální náležitosti a rozsah diplomové práce stanoví pokyny pro vypracování zveřejněné na webových stránkách fakulty.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Marek Penhaker, Ph.D.**

Datum zadání: 18.11.2011

Datum odevzdání: 04.05.2012

doc. Ing. Jiří Koziolek, Ph.D.
vedoucí katedry



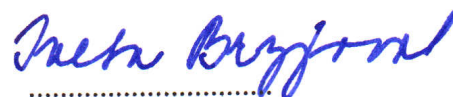
prof. RNDr. Václav Snášel, CSc.
děkan fakulty

Prohlášení studenta

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně.

Uvedla jsem všechny literární prameny a publikace, ze kterých jsem čerpala.

Dne 30. dubna 2012



Bc. Iveta Bryjová

Poděkování


Ráda bych poděkovala vedoucímu této práce Ing. Marku Penhakerovi, Ph.D. za všechny cenné rady a podněty. Poděkování patří konzultantům – lékařům Popáleninového centra Fakultní nemocnice v Ostravě MUDr. Haně Klosové a MUDr. Jiřímu Štětinskému za čas, který věnovali konzultacím a diskusím, a zejména za poskytnutí dat z měření krevní perfuze popáleninových poranění. Rovněž děkuji Ústavu fyziky FPF Slezské univerzity v Opavě za poskytnutí licence systému *Mathematica*[®] a RNDr. Stanislavu Hledíkovi, Ph.D. za pomoc při programování.

Nakonec bych ráda poděkovala za trpělivost, podporu a zázemí svým rodičům a dceři Christině.

Prohlášení zástupce spolupracujících právnícké nebo fyzické osoby

Souhlasím se zveřejněním této diplomové práce dle požadavků čl. 26, odst. 9
Studijního a zkušebního řádu pro studium v bakalářských/magisterských progra-
mech VŠB-TU Ostrava.

Dne 30. dubna 2012



MUDr. Václav Procházka, Ph.D.
Fakultní nemocnice v Ostravě
Náměstek ředitele pro vědu a výzkum

 FAKULTNÍ NEMOCNICE OSTRAVA
17. listopadu 1790, 708 52 Ostrava-Poruba
ÚTVAR NÁMĚSTKA ŘEDITELE
PRO VĚDU A VÝZKUM 49
Tel.: +420 597 372 510
Fax: +420 596 918 660

Abstrakt

Zobrazování perfuze laserovou dopplerometrií (LDPI, Laser Doppler Perfusion Imaging) je diagnostická metoda založená na dopplerovském posunu laserového záření odraženého od pohybujících se krevních elementů poskytující kvantitativní mapy krevní perfuze vyšetřovaných oblastí. Úspěšnost léčby je korelována jak s hodnotami perfuze, tak s jejich časovou evolucí v raném období po poranění. Popáleninové centrum FNO Ostrava archivuje od ledna 2010 LDPI záznamy pacientů s různě závažnými popáleninami a s různou odezvou na léčbu. Teoretická část práce je koncipována jako úvod do studia laserů pro studenty biomedicínského inženýrství, a dále jako přehled využití laserové dopplerometrie v dalších biomedicínských aplikacích. Praktická část diplomové práce se zabývá obrazovou analýzou perfuzních dat, jež by umožnila zařazování pacientů do terapeutických kategorií na základě časového vývoje perfuze.

Klíčová slova

Laser, Dopplerův jev, laserová dopplerometrie, LDI, LDPI, mikrocirkulace, perfuze, dynamika vývoje perfuze, analýza a rozpoznání obrazu

Abstract

Laser Doppler Perfusion Imaging (LDPI) is a diagnostic method based on the Doppler shift of laser radiation reflected from moving blood cells. It provides quantitative maps of blood perfusion in the areas under investigation. Success of the treatment is correlated both with the perfusion values and their time evolution in the early post-injury period. The Burn Center of the University Hospital Ostrava gathers perfusion records of patients with differently serious burn injuries and variable treatment response since January 2010. The theoretical part of this Master Thesis is conceived as a basic material to introduce the principles of lasers to the students of Biomedical engineering, as well as an outline of the potential use of LDI in other biomedical applications. The practical part deals with image analysis of archived perfusion data which would enable ranking the patients into therapeutic categories based on the blood perfusion dynamics.

Key words

Laser, Doppler effect, laser Doppler velocimetry, LDI, LDPI, microcirculation, perfusion, dynamics of perfusion evolution, image analysis and recognition

Seznam použitých symbolů

Symbole jsou řazeny podle abecedy (v pořadí verzálky, minusky, řecké). Hodnoty fyzikálních konstant jsou uvedeny ve *Vybraných fyzikálních konstantách*.

Symbol	Jednotka	Význam
A_{ji}	s^{-1}	Einsteinův koeficient spontánní emise
B_{ji}, B_{ij}	$m \cdot kg^{-1}$	Einsteinovy koef. stimulované absorpce a emise
BSA	m^2	plošný obsah tělesného povrchu
D_x, D_y	mm	vzorkovací perioda fotografie
E	J	energie
\mathcal{E}	arbitrární	energie signálu
H	cm	tělesná výška
I	$W \cdot m^{-2}$	intenzita svazku
L_x, L_y	mm	reálné rozměry fotografie
N	–	počet atomů
N_x, N_y	–	pixelové rozměry fotografie
P	s^{-1}	pravděpodobnost za časovou jednotku
R	m	poloměr křivosti vlnoplochy
T	K	termodynamická teplota
W	kg	tělesná hmotnost
c	$m \cdot s^{-1}$	rychlost světla ve vakuu
d_x, d_y	mm	vzorkovací perioda skenu
e	–	Eulerovo číslo
h, \hbar	J·s	Planckova konstanta (redukovaná Planckova konstanta)

Symbol	Jednotka	Význam
i, j	–	indexy kvantově mechanických stavů
ℓ_x, ℓ_y	mm	reálné rozměry LDPI skenu
h_x, h_y	–	relativní pozice záměrného kříže
n_x, n_y	–	pixelové rozměry LDPI skenu
k	$\text{J} \cdot \text{K}^{-1}$	Boltzmannova konstanta
r	mm	vzdálenost hlavice od objektu
u	$\text{J} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{Hz}^{-1}$	spektrální hustota energie
v	$\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$	rychlost
v_r	$\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$	radiální komponenta rychlosti
w	m	poloměr laserového svazku
x	m	souřadnice podél světelného svazku
z	m	souřadnice podél laserového svazku
β	m^{-1}	součinitel absorpce
Δ	m	amplituda nerovností
μ	arbitrární	střední hodnota
ν	Hz	frekvence
λ	m	vlnová délka
π	–	Ludolfovo číslo
σ	arbitrární	směrodatná odchylka
θ	rad, °	latitudální úhel, rozbíhavost svazku
τ	s	střední doba života

Seznam použitých zkratek

Zkratky jsou seřazeny podle anglické abecedy.

BSA	Body Surface Area (obsah povrchu těla)
CCD	Charge-Coupled Device
CDI	Color Doppler Imaging (Dopplerovská metoda barevného mapování průtoku krve)
CFM	Color Flow Mapping (viz CDI)
CMP	cévní mozková příhoda (iktus)
DPSS	Diode-Pumped Solid-State laser (diodou čerpaný pevnolátkový laser)
DSPTA	Digital Subtraction Perfusion Topography Analysis (digitální subtrakční analýza topografie perfuze)
DUV	Deep Ultraviolet (hluboká ultrafialová oblast)
FIR	Far Infrared (daleká infračervená oblast)
FNO	Fakultní nemocnice Ostrava
GIT	Gastrointestinální trakt
HLLT	High-reactive Level Laser Treatment
LASCA	Laser Speckle Contrast Analysis (laserová specklová analýza kontrastu)
LASER	Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation (zesilování světla stimulovanou emisí záření)
LDI	Laser Doppler Imaging (zobrazování laserovou dopplerometrií)
LDPI	Laser Doppler Perfusion Imaging (zobrazování perfuze laserovou dopplerometrií)
LLLT	Low-reactive Level Laser Treatment
MASER	Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation (zesilování mikrovln stimulovanou emisí záření)
NIR	Near Infrared (blízká infračervená oblast)
OEM	Original Equipment Manufacturer
PAD	Peripheral Artery Disease (periferní arteriální onemocnění)
PC FNO	Popáleninové centrum Fakultní nemocnice Ostrava

PIM	Perfusion Imager (zobrazovač perfuze)
PIPPA	Perfusion Image Progression and Prognosis Assessment (odhad progrese perfuzního obrazu a prognózy [popáleniny])
PTD	Posttraumatic Day (posttraumatický den)
PU	Perfusion Unit (perfuzní jednotka)
RMS	Root-Mean-Square (střední kvadratická hodnota)
ROI	Region Of Interest (oblast zájmu)
SNR	Signal-to-Noise Ratio (odstup signál-šum)
TOS	Thoracic Outlet Syndrom (syndrom hrudní apertury)
UV	Ultraviolet (ultrafialová oblast)
YAG	yttrium aluminium granát

Vybrané fyzikální konstanty

Zpracováno podle [1, 2].

Rychlost světla ve vakuu	$c = 2.99792458 \times 10^8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$
Planckova konstanta	$h = 6.6260755 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$
Redukovaná Planckova konst.	$\hbar \equiv h/2\pi = 1.05457266 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$
Boltzmannova konstanta	$k = 1.380658 \times 10^{-23} \text{ J} \cdot \text{K}^{-1}$
Avogadrova konstanta	$N_A = 6.0221367 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$
Univerzální plynová konstanta	$R \equiv N_A k = 8.314510 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$
Elementární náboj	$e = 1.60217733 \times 10^{-19} \text{ C}$
Elektronvolt	$1 \text{ eV} = 1.60217733 \times 10^{-19} \text{ J}$
Faradayova konstanta	$F = 9.648 \times 10^4 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1}$
Stefanova–Boltzmannova konst.	$\sigma = 5.67051 \times 10^{-8} \text{ W} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{K}^{-4}$
Radiační konstanta	$a \equiv 4\sigma/c = 7.56591 \times 10^{-16} \text{ J} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{K}^{-4}$
Atomová hmotnostní jednotka	$u = 1.660540 \times 10^{-27} \text{ g}$ $= 931.4943 \text{ MeV}/c^2$
Hmotnost protonu	$m_p = 1.672623 \times 10^{-27} \text{ g}$ $= 938.27 \text{ MeV}/c^2$
Hmotnost neutronu	$m_n = 1.674929 \times 10^{-27} \text{ g}$ $= 939.57 \text{ MeV}/c^2$
Hmotnost elektronu	$m_e = 9.10939 \times 10^{-31} \text{ g}$ $= 511 \text{ keV}/c^2$

Seznam obrázků

1.1.	Bohrův model atomu a jeho energetický diagram	12
1.2.	Absorpce, spontánní emise a stimulovaná emise	14
1.3.	Ilustrace Boltzmannova rozdělení	14
1.4.	Zesilování stimulovanou emisí	15
1.5.	Čerpání čtyřhladinového systému	17
1.6.	Schematický diagram koncepce laseru	17
1.7.	Typická konstrukce He-Ne laseru	17
1.8.	Hermitovy–Gaussovy a osově symetrické módy	19
1.9.	Lokalizace opasku laserového svazku	21
1.10.	Závislost poloměru laserového svazku	21
1.11.	Schematické znázornění Dopplerova jevu	27
1.12.	K principu dopplerovské velocimetrie	30
1.13.	Princip laser-dopplerovského zobrazování perfuze	30
2.1.	Průřez vrstvami kůže	34
2.2.	Absorpce laserového záření v závislosti na vlnové délce	36
2.3.	Lambertův–Beerův zákon	38
2.4.	Režimy provozu laseru	40
3.1.	Ukázky popálenin různého stupně	48
3.2.	Jacksonův model popáleniny	49
3.3.	Pravidlo devíti	50
3.4.	Monitorování krevní perfuze popálenin na PC FNO	52
4.1.	PeriScan PIM 3 se skenovací hlavou	57
4.2.	K principu LDPI	59
4.3.	Ukázka zpracování v softwaru LDPIwin 3.1.3	59
4.4.	Ukázka fotografie reálného případu popáleniny	65
4.5.	Ukázka interaktivního panelu pro výběr páru skenů	66
4.6.	Adjustace pozice vnořeného intenzitního skenu a prahování	69
4.7.	Aplikace morfologických operací obrazu na úpravu masky	70
4.8.	Prezentace překryvů pro referenční i subtrahovaný sken	71
4.9.	Ukázka interaktivního panelu pro výběr páru skenů	72
4.10.	Prezentace překryvu pro diferenční perfuzní mapu	74
4.11.	Fit závislosti skenovacích kroků na vzdálenosti hlavičky	76
4.12.	Rastry použité k fitu závislosti rozměrů fotografie	76

4.13.	Fit závislosti rozměrů fotografie na vzdálenosti hlavice	77
4.14.	Interaktivní panel pro určování pozice záměrného kříže	77
4.15.	Fit závislosti pozice záměrného kříže na vzdálenosti hlavice	78
A.1.	Dialog Tools → Options programu LDPlwin 3.1.3	95
A.2.	Okno LDPlwin 3.1.3 s nabídkou File, okno Properties	96
A.3.	Okno LDPlwin 3.1.3 s rozbalenou nabídkou Edit	97
A.4.	Okno LDPlwin 3.1.3 se skenem a prahem intenzity 0.0	99
A.5.	Okno LDPlwin 3.1.3 se skenem a prahem intenzity 0.5	100

Seznam tabulek

1.1.	Klasifikace laserů	22
2.1.	Aplikační možnosti různých typů laserů	41
3.1.	Poměrné části obsahu povrchu částí těla	51
4.1.	Orientační doby skenování PeriScan PIM 3	58
4.2.	Orientační rozměry skenů PeriScan PIM 3	60

Obsah

Úvod	1
Cíl práce	2
Struktura práce	2
I. Laser a jeho aplikace v medicíně	
Kapitola 1. Laser	7
1.1. Historie laseru	7
1.2. Fyzikální princip laseru	11
1.2.1. Fotony a energie	11
1.2.2. Spontánní a stimulovaná emise	12
1.2.3. Inverze populace hladin	16
1.2.4. Rezonátor	18
1.3. Vlastnosti laserového záření	18
1.3.1. Laserový svazek	19
1.4. Klasifikace laserů	20
1.5. Konstrukce laserů	24
1.5.1. Pevnolátkové lasery	24
1.5.2. Kapalinové (barvivové) lasery	25
1.5.3. Plynové lasery	25
1.5.4. Plazmatické lasery	26
1.5.5. Polovodičové lasery	26
1.6. Laserová dopplerometrie	27
1.6.1. Dopplerův jev	27
1.6.2. Měření rychlosti pomocí Dopplerova jevu	29
Kapitola 2. Medicínské aplikace	33
2.1. Anatomie kůže	33
2.2. Funkce kůže	35
2.3. Interakce laserového záření s kůží	36
2.4. Vybrané typy laserů	38
2.5. Klinické a biomedicínské aplikace laseru	41
2.6. Klinické a biomedicínské aplikace dopplerometrie	42
II. Odhad prognózy popálenin pomocí LDPI	
Kapitola 3. Mikrovaskulární diagnostika LDPI	47

3.1.	Klasifikace popálenin	47
3.1.1.	Klasifikace popálenin podle stupně	47
3.1.2.	Klasifikace popálenin podle hloubky	49
3.1.3.	Klasifikace popálenin podle rozsahu	50
3.2.	Současný stav využívání LDPI na PC FNO	51
3.3.	Motivace pro výzkum aplikace LDPI v oblasti popálenin	53
Kapitola 4.	Projekt PIPPA	55
4.1.	Cíl projektu	55
4.2.	Popis přístroje PeriScan PIM 3	55
4.2.1.	Laserová dopplerometrie	56
4.2.2.	Skenování	58
4.3.	Organizace a předzpracování LDPI skenů	61
4.3.1.	Export z LDI souborů	62
4.4.	Principy zpracování LDPI skenů a metoda DSPTA	63
4.4.1.	Metoda DSPTA	72
4.4.2.	Kalibrace	74
4.5.	Implementace v systému <i>Mathematica</i> [®]	76
Závěr		81
	Perspektivy do budoucna	82
Literatura		83
Seznam příloh		89
Adresářová struktura přiloženého CD-ROM		91
Dodatky		
Dodatek A.	Postup exportu dat z LDI souborů	95
Dodatek B.	Bezpečnostní třídy laserů	101
B.1.	Technická dokumentace laserů (§6)	102
B.2.	Některé důležité pojmy	103

Úvod

Diagnostické metody hrály v procesu léčby pacienta rozhodující roli od dob počátků lékařských věd [3, 4]. Odhlédneme-li od nevědeckých a podvodných metod, z nichž mnohé bohužel přetrvávají až do dnešní doby [5], byl diagnostikující lékař zpočátku odkázán pouze na své smysly, později doplňované jednoduchými pomůckami. Výsledky vyšetření, konfrontované s lékařovými znalostmi a zkušenostmi, tvoří diagnózu, jež je základem pro následný terapeutický postup.

S rozmachem přírodních věd (a zejména fyziky) od 17. století se oblast detekovatelnosti začala rozšiřovat jak kvantitativně, tak kvalitativně. Za několik posledních desetiletí bylo díky pokroku ve fyzice, technologii a informatice dosaženo v oblasti medicínské diagnostiky přelomových výsledků. V současné době je většina lékařských výkonů – jak diagnostických, tak terapeutických – podstatným způsobem závislá na produktech moderních technologií [6–8].

V případě diagnostiky může jít o diagnostiku *aktivní*, kdy diagnostické agens je vytvářeno mimo organismus a zajímá nás, jak je organismem ovlivněno resp. jaká je odezva organismu na ně. Typickým příkladem je v této práci popisovaná laserová dopplerometrie; jako další příklady lze uvést rentgenovou diagnostiku včetně výpočetní tomografie, zobrazování magnetickou rezonancí nebo ultrazvukovou sonografii. Diagnostika *pasivní* využívá diagnostické agens produkované samotným organismem; přístroje pouze zajišťují jeho snímání, případný převod na elektrický signál, zesílení a zpracování. Typickým příkladem je měření krevního tlaku (vyžadující konverzi na elektrický signál) nebo EKG či EEG využívající přímo elektrických signálů produkovaných organismem, takže fáze konverze na elektrický signál odpadá.

Většina soudobých diagnostických metod je nemyslitelná bez využití počítačů nebo informačních technologií obecně. Aplikace nejnovějších poznatků z aplikované matematiky včetně zpracování signálu a obrazu, elektroniky, automatizovaných systémů měření a řízení, expertních systémů na principech umělé inteligence, využití informačních systémů, stejně jako komunikačních systémů a počítačových sítí se v posledních deseti letech staly zcela samozřejmou součástí většiny diagnostických (a terapeutických) komplexů.

Cíl práce

Tématem diplomové práce „Využití laserové dopplerometrie v mikrovaskulární diagnostice“ je zobrazování krevní perfuze laserovou dopplerometrií (LDPI, Laser Doppler Perfusion Imaging), což je diagnostická metoda založená na vyhodnocování dopplerovského posunu laserového záření odraženého od pohybujících se krevních elementů (typicky erytrocytů) v povrchových vrstvách kůže, jež poskytuje kvantitativní mapy krevní perfuze vyšetřovaných oblastí.

Cílem praktické části práce je rozšířit tuto diagnostickou metodu o digitální subtrakční metodu. Motivace pro takové rozšíření jsou nedávno publikované klinické studie [9–11], v nichž bylo zjištěno, že úspěšnost léčby popálenin je korelována jak s hodnotami perfuze, tak s jejich trendem v raném období po poranění. Úspěšný výsledek léčby je podmíněn nejen určitou nadprahovou hodnotou perfuze v prvních poúrazových dnech, ale také patřičným růstem během nich. Situace je komplikována plošným charakterem popáleninového poranění, kdy určité části rány mohou jevit rozdílnou dynamiku. Výsledkem naznačené analýzy perfuzních dat by měl být návrh metodiky zařazování pacientů do terapeutických kategorií na základě map perfuze a její časové dynamiky.

Cílem předřazené teoretické (kompilační) části práce je poskytnout úvod do studia laserů pro studenty biomedicínského inženýrství, včetně přehledu využití laserové technologie v dalších biomedicínských aplikacích.

Struktura práce

Diplomová práce je koncepčně rozdělena do dvou částí. Část I nazvaná *Laser a jeho aplikace v medicíně* je věnována fyzice a technologii laserového záření a souvisejících oblastí, má rešeršní charakter a sestává ze dvou kapitol. V Kapitole 1 jsou popsány obecné fyzikální principy laserového záření, laserová dopplerometrie a je zde uvedena klasifikace laserů. Kapitola 2 je věnována aplikační oblasti laserů v medicíně se zvláštním zřetelem na interakci laserového záření s tkání, mikrovaskulární diagnostiku, principy zobrazování pomocí laserové dopplerometrie (LDI) s možností měření a zobrazování krevní perfuze popálenin (LDPI), možnosti laserové mikrovaskulární diagnostiky (popáleniny, plastická chirurgie, transplantace, Raynaudův syndrom,¹ vaskulární diagnostika, dermatologie, stomatologie, neurologie apod.). Ačkoliv si tato část neklade nárok na úplnost (důraz je položen zejména na metody použité v následující Části 2),

¹ Raynaudův syndrom – recidivující záchvaty zblednutí a bolestí periferních částí těla, zejména prstů na ruce. Vazospasmus kapilár vede k poruše krevního zásobení postižené oblasti.

je koncipována tak, aby ji bylo možno chápat jako podpůrný výukový materiál pro studenty bakalářských biomedicínských oborů.

Část II nazvaná *Odhad prognózy popálenin pomocí LDPI* představuje vlastní nekompilovaný přínos, a sestává rovněž ze dvou kapitol. Kapitola 3 shrnuje současný stav výzkumu a využití laserové dopplerometrie při léčbě na Popáleninovém centru FNO a zdůvodňuje metodu zaváděnou v této diplomové práci. Kapitola 4 je pak věnována rozpracování metody digitálního zpracování výstupů LDPI, jež by směřovala k cíli této diplomové práce – návrhu metodiky objektivního hodnocení LDI perfuzních map v raných fázích popáleninového poranění na základě jejich dynamiky pro účely volby a postupu terapie. V tomto bodě je práce realizována ve spolupráci s Popáleninovým centrem Fakultní nemocnice Ostrava, kde jsou archivovány záznamy krevní perfuze pacientů s různě závažným popáleninovým poraněním a různou odezvou na léčbu.

V závěru je na základě archivních LDPI skenů zhodnocena realizovatelnost a přínos vyvinutého rozšíření metody laserové dopplerometrie v léčbě popálenin, a je naznačena perspektiva jejího budoucího vývoje. Zároveň je posouzena účelnost aplikace výsledku praktické části v klinické praxi [12].

Práce je vybavena dodatkovou částí obsahující partie, jež by svým charakterem narušovaly kontinuitu výkladu. Přílohou práce je CD-ROM s kompletními zdrojovými texty a výslednými soubory jak textové, tak programové složky diplomové práce. Popis struktury disku je uveden na straně 91.

V některých partiích práce jsou uvedeny odkazy na interaktivní demonstrace vytvořeny v programu *Mathematica*[®] fy Wolfram Research v rámci Wolfram Demonstration Project. Tyto interaktivní demonstrace lze prohlížet ve volně dostupném programu CDF Player (<http://demonstrations.wolfram.com/download-cdf-player.html>) též firmy bez nutnosti vlastního nákupu programu *Mathematica*[®], který je základním nástrojem pro prototyping navrhovaných metod zpracování perfuzních skenů v Části II. Demonstrace odkazované v textu lze prohlížet a ovládat přímo ve webovém prohlížeči (instalace CDF Playeru zahrnuje příslušný plugin), nebo je lze uložit na disk a prohlížet a ovládat v lokálně nainstalovaném programu.

Citované prameny a publikace jsou v textu odkazovány arabskými číslicemi v hranatých závorkách [13], a jsou seřazeny podle prvního výskytu odkazu v textu. Poznámky pod čarou jsou odkazovány rovněž arabskými číslicemi, ale umístěnými jako horní index.²

² Ukázka výstupu z LDPI modality PeriScan PIM 3 System na protititulu je upravena ze vzorových skenů, jež jsou součástí softwaru [14].

Část I

Laser a jeho aplikace v medicíně

Kapitola 1

Laser

Slovo „laser“ je akronymem anglického *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*, česky *zesilování světla stimulovanou emisí záření*. Laser je po fyzikální stránce kvantový generátor a zesilovač koherentního optického záření.¹ Unikátními vlastnostmi optického záření generovaného laserem jsou

- extrémní monochromaticnost (fotony záření mají s vysokou přesností stejnou vlnovou délku resp. frekvenci),
- vysoká koherence (fotony svazku jsou sfázovány),
- v závislosti na rezonátoru laseru lze dosáhnout nízké divergence neboli rozbíhavosti svazku (tj. všechny fotony se s vysokou přesností pohybují stejným směrem),
- vysoká hustota výkonu (velký jas).

Tato kapitola podává stručný výklad fyzikálních principů laseru. Nepřináší žádný vlastní výsledek a byla zpracována kompilačním způsobem převážně podle knih a článků [15–24].

1.1. Historie laseru

Historie laseru – a obecně kvantových zesilovačů záření – byla na přelomu 19. a 20. století předznamenána objevem MAXE PLANCKA, který vyřešil rozpor v teoretickém odvození spektra absolutně černého tělesa (tzv. ultrafialová katastrofa v Rayleighově–Jeansově zákonu) zavedením kvantování světelné energie. Elektromagnetické záření nemá spojitou energii; energie E světelného kvanta a frekvence záření ν jsou spojeny vztahem

$$E = h\nu, \tag{1.1}$$

¹ Termín *laser* se běžně používá ve dvou smyslech: jednak v původním smyslu akronymu, tj. jako metoda zesilování světla stimulovanou emisí záření, jednak jako fyzické zařízení, jež tuto metodu nějakým způsobem implementuje. Singulár v názvu Části I a Kapitoly 1 volíme právě z důvodu, že odkazuje na první význam.

kde $h = 6.626 \times 10^{-34} \text{ J}\cdot\text{s}$ je Planckova konstanta. Vyzařovací zákon popisující správný tvar spektrální hustoty energie $u(\nu)$ (s jednotkou $\text{J}\cdot\text{m}^{-3}\text{Hz}^{-1}$) elektromagnetického záření v tepelné rovnováze s černým tělesem o termodynamické teplotě T ,

$$u(\nu) = \frac{8\pi h}{c^3} \frac{\nu^3}{e^{\frac{h\nu}{kT}} - 1}, \quad (1.2)$$

v němž ν označuje frekvenci, $c = 2.9979 \times 10^8 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ označuje rychlost světla, $k = 1.38 \times 10^{-23} \text{ J}\cdot\text{K}^{-1}$ Boltzmannovu konstantu,² nese Planckovo jméno [15]. V roce 1905 na Plancka navázal ALBERT EINSTEIN, který pojem elementárního kvanta použil pro vysvětlení jevů souvisejících se zářením (fotoelektrický jev, ionizace plynů, Stokesova pravidla),³ a potvrdil životaschopnost rodící se kvantové představy [17]. Na přelomu dvacátých let se kvantová teorie díky Einsteinovi, Bohrovi, Sommerfeldovi, Comptonovi, Debyeovi, de Brogliemu, Schrödingerovi, Paulimu, Heisenbergovi, Bornovi, Jordanovi, Diracovi, Fermimu a dalším velmi rychle vyvíjela. Ačkoliv sám Planck zavedl kvanta původně jako ad hoc hypotézu pro vysvětlení spektra záření černého tělesa, a ačkoli sám Einstein se snažil nalézat argumenty proti rodící se kvantové teorii,⁴ kvantová hypotéza se dále vyvíjela a procházela úspěšně dalšími a dalšími testy. Dnes je kvantová fyzika základním nástrojem, na němž je vystavěn soudobý technologický pokrok, a který si dále podmaňuje další hierarchicky „vyšší“ oblasti jako chemie, biologie a informatika [25].

Z důvodu limitovaného rozsahu se v dalším omezíme na časovou linii výsledků bezprostředně spjatých s laserem. Pro podrobnější přehled odkazujeme např. na [17, 24] a literaturu tam citovanou.

1917 Einstein popsal stimulovanou emisi, která se stala teoretickým základem pro objev maserů a laserů.

1924 RICHARD C. TOLMAN diskutoval „negativní absorpci“, tj. zesílení, a vysvětlil, že výstupní záření je koherentní se vstupním zářením.

1928 RUDOLPH W. LANDENBURG a H. KOPFERMANN potvrdili existenci stimulované emise.

1940 V. A. FABRIKANT navrhl ve své disertační práci metodu pro produkci populační inverze.

² Přesnější hodnoty viz *Vybrané fyzikální konstanty* na straně xvii.

³ Za kvantové objasnění fotoelektrického jevu v roce 1905 dostal v roce 1921 Nobelovu cenu.

⁴ Jejímž byl přitom sám zakladatelem, a jeho protiargumenty paradoxně posloužily jako základna pro myšlenkové experimenty napomáhající při rozvoji kvantové teorie.

1947 V. E. LAMB a R. C. RETHERFORD pozorovali stimulovanou emisi ve spektech vodíku.

1950 A. KASTLER teoreticky objevil princip optické excitace (Nobelova cena za rok 1966), v roce 1952 byl tento princip BROSELEM, Kastlerem a WINTEREM experimentálně prokázán.

Stimulovaná emise záření byla historicky nejprve realizována v podobě *maseru* (akronym *Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation*, neboli *zesilování mikrovln stimulovanou emisí záření*), který pracuje na stejném principu jako laser, avšak ve frekvenčním rozsahu mikrovlnného záření.

1951 CHARLES H. TOWNES vynalezl čpavkový maser. V experimentu pomocí nukleární magnetické rezonance zavedl EDWARD PURCELL a ROBERT POUND pojem negativní teploty k popisu stavů inverzní populace.

1953 Townes, JAMES P. GORDON a HERBERT J. ZEIGER sestrojili na Columbijské Univerzitě první maser. Tento maser však neumožňoval kontinuální režim. Maser s kontinuálním režimem ve stejném období realizovali ve stejném období v SSSR NIKOLAJ G. BASOV a ALEXANDR M. PROCHOROV. Townes, Basov a Prochorov obdrželi za objev principu zesilování světla stimulovanou emisí záření v roce 1964 Nobelovu cenu.

1956 NICOLAAS BLOEMBERGEN sestavil vysoce účinný třístupňový krystalový maser schopný pracovat v kontinuálním režimu.

1957–1958 Townes a ARTHUR L. SCHAWLOW v Bell Laboratories intenzivně studovali možnost realizace „optických maserů“ v infračervené a viditelné oblasti spektra a popsali koncept laseru.

1959 GORDON GOULD poprvé zavedl termín „laser“ v článku „The LASER: Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation“. Gould je na základě notářsky ověřeného zápisu z r. 1947 po dlouholetém právním sporu pokládán za vynálezce pevnolátkového a plynového laseru.

16. května 1960 THEODORE H. MAIMAN, C K. ASAWA a I. J. D'HAENENS z Hughes Research Laboratories experimentálně demonstrovali v kalifornském Malibu první úspěšně pracující laser založený na rubínovém krystalu. V téže roce SOROKIN a STEVENSON vyvíjí první čtyřúrovňový pevnolátkový laser v IBM. ALI JAVAN, WILLIAM BENNETT a DONALD HERRIOTT v Bellových Laboratořích sestavili první plynový (He-Ne) laser.

1961 CHARLES CAMPBELL a CHARLES KOESTER poprvé použili laser ve zdravotnictví – odstranili nádor sítnice pomocí rubínového laseru. ELIAS SNITZER popsal první operace s neodymovým laserem. Tento laser se stal prvním, u něhož bylo zkoumáno použití jako laserová zbraň. V současnosti je uvažován jako laserový zdroj pro fúzi. P. A. FRANKEN, A. E. HILL, C. W. PETERS

a G. WEINREICH transformovali červené světlo rubínového laseru na zelené průchodem přes krystal křemene (první ukázka nelineární optiky).

1962 V Bell Laboratories byl vyvinut první YAG laser. Tento laser má hlavní využití při zpracování materiálu. Výzkumné skupiny v GE, IBM a MIT Lincolnových laboratořích zároveň pracovali na galium arsenovém laseru, který převádí elektrickou energii přímo na infračervené světlo. F. J. MCCLUNG a R. W. HELLWARTH vyvinuli Q-přepínač, který umožňuje generovat krátké pulsy laseru o velmi vysoké energii. Čtyři skupiny vědců nezávisle na sobě sestavily polovodičové lasery, které pracují při nízkých teplotách. Skupiny byly soustředěny kolem M. I. NATHANA, R. N. HALLA, T. M. QUIST a poslední vedli N. HOLONYAK a S. F. BEVACQUA.

1963 C. KUMAR N. PATEL vyvinul v Bellových laboratořích plynový CO₂ laser. L. E. HARGROVE, R. L. FORK a M. A. POLLACK demonstrovali lasery s aktivní módovou synchronizací s délkou generovaných pulsů řádově 100 ps. HERBERT KROEMER a tým RUDOLFA KAZARINOVA a ZHORESE ALFEROVA nezávisle navrhli vybudovat heterostrukturální polovodičový laser.

Zjednodušeně řečeno, nelaserové (přirozené) zdroje světla vyzařují světelné vlny, jež nemají přesně stejnou frekvenci a fázi. Laserové zdroje mají vlastnost, že jimi produkované světlo je koherentní, tj. vlny vyzařované jednotlivými atomy mají díky uplatnění principu stimulované emise stejnou frekvenci a jsou ve fázi.⁵

Od té doby bylo vyvinuto nepřeberné množství realizací laserů pracujících i v jiných spektrálních oblastech elektromagnetického záření než je optická, které však spojuje společný princip koherentního optického zesilování. Vlnové délky laserového záření spadají od mikrovlnné oblasti přes infračervené tepelné záření, viditelné světlo až po rentgenové paprsky. Laserový svazek je využitelný od obrábění velmi tvrdých materiálů přes komunikační účely po lékařské aplikace. Jako kuriozitu uveďme požitelný „želé“ laser (v originále „jello“ laser [18]).

Jen mnohem menší počet těchto implementací společného principu však našel praktické uplatnění ve vědě, průmyslu, komerční a vojenské sféře. Aplikace laseru, podobně jako u jiných zásadních objevů, se postupem času rozšířily do mnoha oblastí lidského života, i takových, o nichž by to objevitelé laseru nečekali. Helium-neonové lasery (první typ kontinuálně pracujícího laseru), polovodičové

⁵ Poznamenejme, že termín „light“, tedy „světlo“, zde chápeme v poněkud širším kontextu než jen jako viditelné světlo (zhruba mezi 390 nm a 760 nm), konkrétně jako elektromagnetické vlnění s vlnovou délkou mezi 1 nm a 1000 μm. Vlnové délky mezi 760 nm a 10 μm se nazývá blízká infračervená oblast (NIR, Near Infrared), cokoliv výše až do 1000 μm pak daleká infračervená oblast (FIR, Far Infrared). Naopak, oblast od 390 nm do 200 nm je nazývána ultrafialovou oblastí (UV, Ultraviolet), pod 200 nm do 1 nm hlubokou ultrafialovou oblastí (DUV, Deep Ultraviolet).

diodové lasery, a vodou chlazené iontové lasery našly široké OEM (Original Equipment Manufacturer) uplatnění. V posledních letech rychle roste OEM využití diodami pumpovaných pevnolátkových laserů (DPSS). Pro účely dopplerometrie je laserové záření naprosto nezbytné pro svou monochromaticnost. Dopplerovské frekvenční posuvy jsou často tak malé, že použití nelaserových zdrojů by je neumožňovalo detekovat a měřit.

Česká republika (tehdejší ČSSR) se stala čtvrtým státem světa, kde se podařilo realizovat laserové generování světla [26].

1.2. Fyzikální princip laseru

Jak bylo již řečeno výše, existuje mnoho typů laserových generátorů. Každý však zahrnuje tři principiální části:

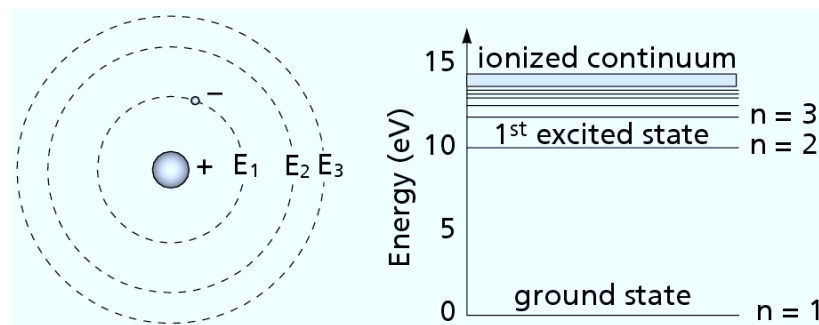
- *laserové aktivní prostředí* (krystal, plyn, barvivo, polovodič, plazma), ve kterém probíhá zesilování záření,
- *čerpací zdroj* (záblesk světla, elektrický výboj, elektronový svazek apod.) pro excitaci aktivního prostředí,
- *optický rezonátor* vytvářející kladnou zpětnou vazbu mezi zářením a aktivním prostředím.

Kvantové systémy, jejichž vlastností laser využívá, jsou typické tím, že jejich energetické hladiny jsou určeny řešením časově nezávislé Schrödingerovy rovnice (též nazývané rovnice pro vlastní hodnoty). Tyto hladiny mohou být někdy diskrétní (např. pro atom), někdy spojité (pro volnou částici) a někdy tvoří hustě uspořádané diskrétní hladiny zvané pásy (v pevných látkách). Tepelné excitace nebo vnější pole, např. ozáření, mohou způsobit přechod systému z jedné z energetických hladin na druhou, vyšší hladinu. Prostřednictvím těchto pochodů se uskutečňuje výměna energie mezi systémem a vnějším světem.

Striktně řečeno jsou zákony, jimiž se řídí interakce záření s látkou, popsány kvantovou elektrodynamikou. Vzhledem k účelu a rozsahu této práce budeme důsledky z těchto zákonů plynoucí používat bez formálních důkazů, ale v souladu s kvantovou podstatou mikrosvěta.

1.2.1. Fotony a energie

Abychom v tomto místě zjednodušili výklad, budeme uvažovat jednoduchý kvantový systém s diskrétními energetickými hladinami – vodíkový atom a jeho Bohrovův model (obrázek 1.1 na straně 12). Ačkoli tento model neodpovídá zcela dnešním představám o kvantovém systému, bude nám pro demonstraci užitečný



Obrázek 1.1. Bohrov model atomu a jeho energetický diagram. Je vyznačen základní stav ($n = 1$), první excitovaný stav ($n = 2$) a ionizované kontinuum (pro energie nad 1 Rydberg = 13.6 eV). Podle [18].

jako modelový kvantový systém. Podrobněji se ke konkrétním kvantovým systémům používaným v laserových generátorech vrátíme v sekci 1.4.

Světlo tvoří částice zvané *fotony*, jež vykazují jak částicové, tak vlnové vlastnosti. Každý foton má intrinsickou energii danou vztahem (1.1). Protože pro vlnění je frekvence spojena s vlnovou délkou λ vztahem

$$\lambda \nu = c, \quad (1.3)$$

kde ν označuje frekvenci a $c = 2.9979 \times 10^8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ rychlost světla, můžeme vztah (1.1) přepsat ve tvaru

$$E = \frac{hc}{\lambda}. \quad (1.4)$$

1.2.2. Spontánní a stimulovaná emise

Uvažujme dvě diskrétní energetické hladiny, hladinu i s energií E_i a hladinu j s energií $E_j > E_i$.⁶ Je-li elektron na začátku ve stavu i , může se dostat do vyššího stavu j absorpcí fotonu světla o frekvenci⁷

$$\nu = \frac{E_j - E_i}{h} \quad (1.5)$$

⁶ Tato subsekce sleduje výklad v knize [15].

⁷ Pokud zanedbáme efekt zpětného rázu atomu.

nebo podle (1.3) o vlnové délce

$$\lambda = \frac{hc}{E_j - E_i}. \quad (1.6)$$

K popisu stimulované emise použijeme Einsteinův termodynamický přístup. Pravděpodobnost, že skutečně dojde k takovému přechodu atomu na vyšší energetickou hladinu, je úměrná hustotě energie fotonů o frekvenci ν , tj. $u(\nu)$. Kromě toho tato pravděpodobnost závisí také na vlastnostech stavů i a j , kterou pro danou dvojici stavů zahrneme do konstanty B_{ij} . Vystavíme-li atom ve stavu i světlu o frekvenci ν a spektrální hustotě energie $u(\nu)$, bude pravděpodobnost přechodu (za jednotku času) $P_{i \rightarrow j}$ do stavu j

$$P_{i \rightarrow j} = B_{ij}u(\nu). \quad (1.7)$$

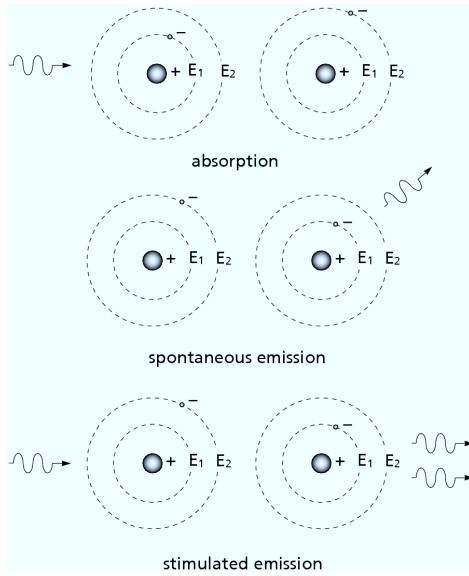
Je-li atom ve stavu s vyšší energií j , má určitou pravděpodobnost A_{ji} samovolného (spontánního) přechodu do stavu s nižší energií i emisí fotonu o frekvenci ν v náhodném směru a s náhodnou fází. Avšak pokud atom ve stavu j ozařujeme světlem o frekvenci ν , je určitá pravděpodobnost, že toto světlo indukuje přechod atomu do energeticky nižšího stavu i . Přitom emitovaný foton bude mít přesně stejnou frekvenci a fázi a bude emitován ve stejném směru jako původní foton, který emisi indukoval. Pravděpodobnost této *stimulované (indukované)* emise je úměrná součinu odpovídajícího koeficientu B_{ji} a spektrální hustoty energie $u(\nu)$. Tyto jevy považujeme za nezávislé, pak celková pravděpodobnost $P_{j \rightarrow i}$ přechodu za jednotku času ze stavu j do stavu i je

$$P_{j \rightarrow i} = A_{ji} + B_{ji}u(\nu), \quad (1.8)$$

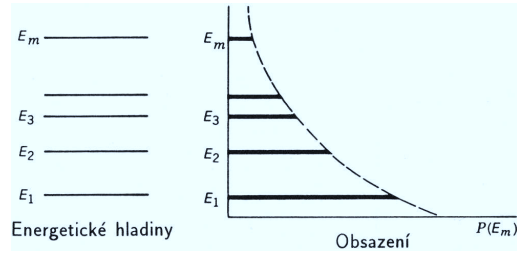
kde *Einsteinovy koeficienty* A_{ji} , B_{ji} a B_{ij} závisejí na detailních vlastnostech stavů i a j . Absorpce, spontánní emise a stimulovaná emise jsou schematicky znázorněny na obrázku 1.2 na straně 14.

Dále uvažujeme soubor N_i atomů ve stavu i a N_j atomů ve stavu j , jež se nacházejí v tepelné rovnováze se světlem o kmitočtu ν a spektrální hustotě energie $u(\nu)$ při teplotě T . Tepelná rovnováha znamená, že počet atomů ve stavu i absorbujících foton a přecházejících za jednotku času do energeticky vyššího stavu j s pravděpodobností $P_{i \rightarrow j}$ je stejný jako počet atomů ve stavu j , které přecházejí do energeticky nižšího stavu i buď spontánní nebo indukovanou emisí s pravděpodobností $P_{j \rightarrow i}$:

$$N_i P_{i \rightarrow j} = N_j P_{j \rightarrow i}. \quad (1.9)$$



Obrázek 1.2. K absorpci, spontánní emisi a stimulované emisi. Při stimulované emisi má emitovaný foton stejnou frekvenci a fázi a je emitován ve stejném směru jako stimulující foton. Podle [18].



Obrázek 1.3. Boltzmannovo rozdělení podle vztahu (1.11) určuje pravděpodobnost obsazení energetických hladin v termodynamické rovnováze při teplotě T . S rostoucí energií obsazení klesá. Podle [16].

S přihlédnutím k (1.7) a (1.8) vyjádříme z (1.9) spektrální hustotu energie ve tvaru

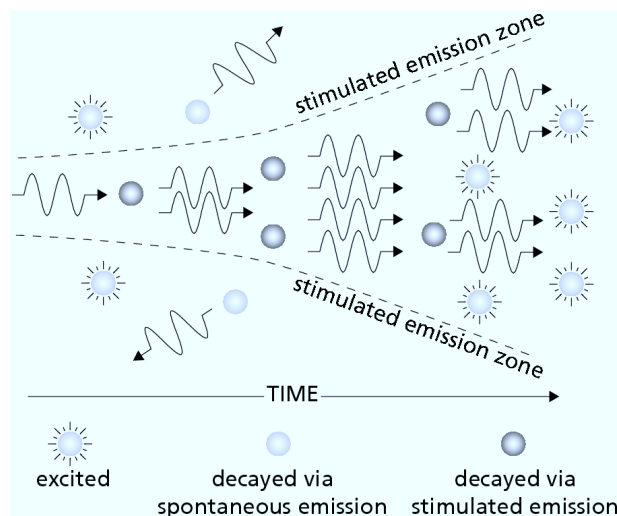
$$u(\nu) = \frac{\frac{A_{ji}}{B_{ji}}}{\frac{N_i}{N_j} \frac{B_{ij}}{B_{ji}} - 1}. \quad (1.10)$$

Poměr obsazení stavů i a j při absolutní teplotě T je dán *Boltzmannovým faktorem* známým ze statistické fyziky (viz např. [15] a obrázek 1.3)

$$\frac{N_i}{N_j} = e^{\frac{E_j - E_i}{kT}} = e^{\frac{h\nu}{kT}}, \quad (1.11)$$

kde k je *Boltzmannova konstanta* (viz *Vybrané fyzikální konstanty* na straně xvii). Spojením (1.11) a (1.10) dostaneme pro hustotu energie fotonů o frekvenci ν při teplotě T v rovnováze s atomy, jejichž možné energie jsou E_i a E_j

$$u(\nu) = \frac{\frac{A_{ji}}{B_{ji}}}{\frac{B_{ij}}{B_{ji}} e^{\frac{h\nu}{kT}} - 1}. \quad (1.12)$$



Obrázek 1.4. K zesilování stimulovanou emisí. Vyznačeny jsou atomy v excitovaném stavu, atomy vyzářené spontánní emisí a atomy vyzářené stimulovanou emisí. Podle [18].

Aby tato formule byla v souladu s Planckovým vyzařovacím zákonem (1.2), musí Einsteinovy koeficienty splňovat relace

$$B_{ij} = B_{ji}, \quad \frac{A_{ji}}{B_{ji}} = \frac{8\pi h \nu^3}{c^3}. \quad (1.13)$$

Pro normální populaci atomů je vždy větší počet atomů N_i ve stavu i s nižší energií než počet atomů N_j ve stavu j s vyšší energií; to plyne ihned z Boltzmannova faktoru (1.11), neboť $E_j - E_i > 0$, takže $N_i/N_j > 1$. Ve skutečnosti platí $N_i \gg N_j$, neboť $h\nu$ je pro záření atomů mnohem větší než kT . Ozáříme-li světlem o frekvenci ν systém, v němž energetický rozdíl mezi základním stavem a excitovaným stavem je $h\nu$, bude na horním stavu (z velké části neobsazeném) nevelká stimulovaná emise, a jako dominantní jev se bude vyskytovat absorpce fotonů atomy a následné zpětné vyzařování fotonů téže frekvence.

Tento rozbor poprvé provedl Einstein v roce 1917. Ukazuje, že koeficient pravděpodobnosti pro absorpční přechod mezi dvěma stavy je též jako koeficient pro stimulovanou emisí. Kromě toho ukazuje, že poměr koeficientů spontánní a stimulované emise je úměrný ν^3 , takže relativní pravděpodobnost stimulované emise rychle klesá s energetickým rozdílem mezi uvažovanými stavy.

Obrázek 1.4 nerealistickým, ale názorným způsobem představuje ideu stimulované emise. Všechny atomy na něm zobrazené začínají ve stejném excitovaném stavu, a většina z nich se nachází ve stimulačním dosahu procházejícího fotonu. Předpokládá také, že časová konstanta (střední doba života v excitovaném stavu)

je velmi velká a že pravděpodobnost stimulované emise je 1. Stimulující foton interaguje s prvním fotonem a způsobuje stimulovanou emisi koherentního duplikátu. Tyto fotony interagují s dalšími dvěma excitovanými atomy, což má za výsledek čtyři koherentní fotony, a tak dále. Na konci procesu obdržíme jedenáct koherentních fotonů, všechny s identickými fázemi a všechny pohybující se ve stejném směru. Jinými slovy, počáteční foton byl „zesílen“ faktorem 11. Energie pro excitaci atomů je poskytována externím zdrojem, což se obvykle označuje jako „čerpání“ (pumping).

1.2.3. Inverze populace hladin

Energetické stavy kvantových systémů jsou ve skutečnosti mnohem komplikovanější než bylo popsáno výše. Existuje v něm mnohem více energetických hladin, a každá z nich má svou vlastní časovou konstantu τ , což je střední doba, za kterou dochází ke spontánnímu přechodu. Obrázek 1.5 na straně 17 znázorňuje čtyřhladinové schéma některých skutečných laserů.⁸

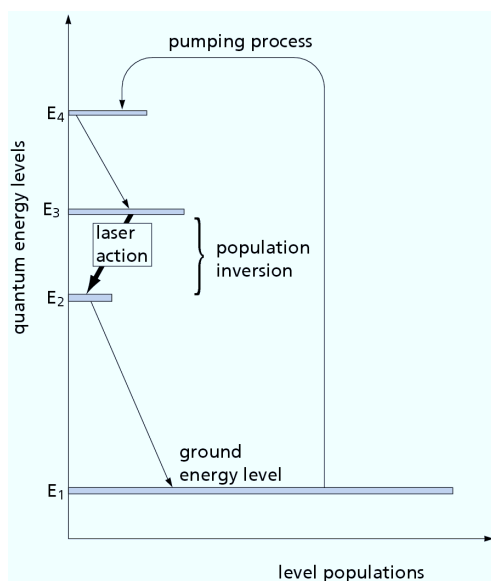
Elektrony jsou čerpány (excitovány) na energeticky nejvyšší hladinu E_4 určitým mechanismem, například kolizí s jiným atomem nebo absorpcí záření s frekvencí $\nu' = (E_4 - E_1)/h$. Systém pak přechází do stavu 3 (na tzv. laserovou hladinu), pak do stavu 2 (na tzv. terminální hladiny), a nakonec do základního stavu 1. Pokud je časová konstanta vzhledem ke spontánní emisi pro přechod $2 \rightarrow 1$ mnohem menší než časová konstanta pro přechod $3 \rightarrow 2$, můžeme dalším čerpáním dosáhnout vyššího obsazení laserové hladiny 3 než terminální hladiny 2.⁹ Říkáme, že došlo k inverzi obsazení populace energetických hladin 2 a 3. Systém je v nerovnovážném stavu, formálně jej lze popsat pomocí záporné absolutní teploty v Boltzmannově faktoru (1.11).

Pustíme-li na systém záření o frekvenci $\nu = (E_3 - E_2)/h$, převýší stimulovaná emise fotonů s touto frekvencí jejich absorpci, neboť ve vyšším stavu je více atomů a čistý výsledek bude představovat množství vystupujícího záření o frekvenci ν převyšující množství přiváděného záření. To je princip zařízení zvaných *laser* nebo *maser*.

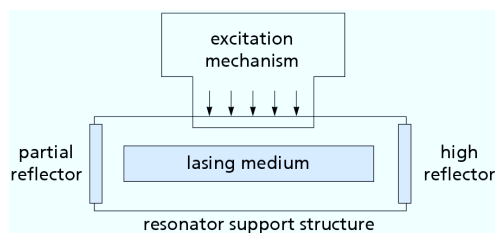
Záření produkované spontánní emisí je nekoherentní, s nahodilými fázovými vztahy v prostoru a v čase, neboť mezi atomy systému neexistuje žádná ko-

⁸ Při popisu inverze populace se obvykle používá tříhladinový nebo čtyřhladinový model. Dvuhladinový systém nemůže dosáhnout inverze populace – v takovém systému se maximálně ustaví rovnováha obsazení [23].

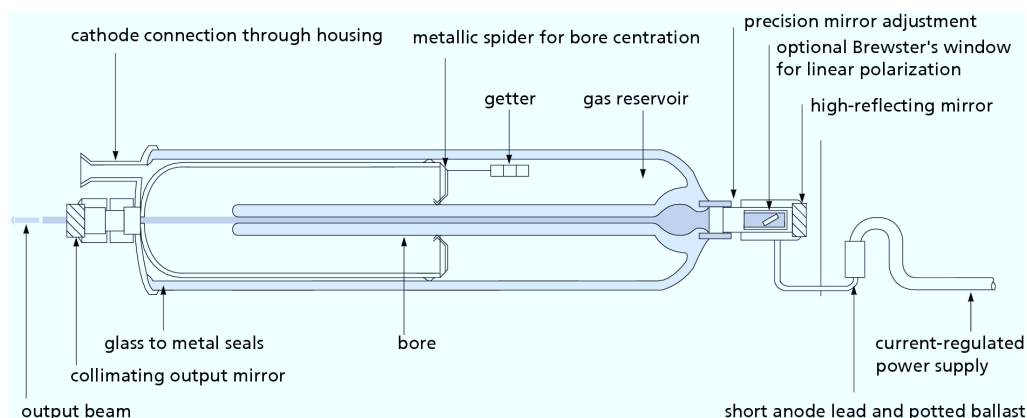
⁹ Stav 3 se také nazývá *metastabilní*, a jeho časová konstanta může převyšovat časovou konstantu stavu 2 o mnoho řádů.



Obrázek 1.5. Čerpání čtyřhladinového systému. Inverze obsazení populace energetických hladin a laserový efekt nastává mezi hladinami 2 a 3. Podle [18].



Obrázek 1.6. Schematický diagram koncepce laseru. Aktivní prostředí (lasing medium) je kontinuálně čerpáno vhodným excitačním mechanismem tak, aby se dosáhlo inverze populace mezi hladinami, jejichž energetický rozdíl odpovídá frekvenci laserového záření. Fotony pohybující se podél podélné osy laserového média mají díky zrcadlu a polopropustnému zrcadlu možnost mnohonásobně stimulovat atomy, s nimiž se setkávají. Stimulované emise převládne nad spontánní. Podle [18].



Obrázek 1.7. Typická konstrukce helium-neonového laseru. Podle [18].

ordinace. Záření produkované při stimulované emisi je však ve fázi s budicím zářením, díky čemuž laser nebo maser vytváří zcela koherentní svazek.

1.2.4. Rezonátor

Ačkoli pomocí stimulované emise lze koherentně zesilovat záření,¹⁰ je zisk při jediném průchodu fotonu aktivním prostředím velmi malý, přičemž většina excitovaných atomů populace emituje spontánně a nepřispívá do celkového koherentního výstupu. Aby se systém stal laserem, potřebuje zavést mechanismus kladné zpětné vazby, který přiměje většinu atomů populace přispívat do koherentního výstupu. Tuto roli plní *rezonátor* – typicky systém dvou zrcadel, který odráží nežádoucí (mimoosové) fotony pryč z aktivního prostředí a žádoucí (osové) fotony zpět do aktivního prostředí, kde přispívají k dalšímu zesilování.

Typický laser představuje plynem plněná trubice nebo váleček z pevné látky (aktivní prostředí) se zrcadly na obou koncích, z nichž jedno je částečně propustné, aby umožnilo výstup produkovaného záření (rezonátor). Systém se čerpá budicím zářením o frekvenci ν' , jež se vpouští do aktivního prostředí stěnami trubice, zatímco podélné, zrcadly mnohokrát odražené záření o frekvenci ν podněcuje stimulovanou emisi (obrázek 1.6 na straně 17). Obvyklá konstrukce He-Ne laseru je na obrázku 1.7 na straně 17.

Pro interaktivní znázornění principu laseru doporučujeme vyzkoušet demonstraci <http://demonstrations.wolfram.com/HeNeLaser/>.

1.3. Vlastnosti laserového záření

Od konvenčních světelných zdrojů se laserové světlo odlišuje následujícími vlastnostmi:

- Záření je *prostorově koherentní*, to znamená, že vlny emitované z různých míst aktivního prostředí mají pevný fázový vztah.
- Pomocí rezonátoru lze dosáhnout toho, že záření se v prostoru nešíří všemi směry, ale je *fokusováno do úzkého svazku* (viz subsekcce 1.3.1). Například svazek některých typů helium-neonového laseru namířený na Měsíc pokryje po rozšíření teleskopem s aperturou 1 m plochu o průměru 240 m (při zanedbání fluktuací atmosféry). Fokusací na malou plošku lze dosáhnout extrémně vysoké hustoty výkonu (až $10^{14} \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$).

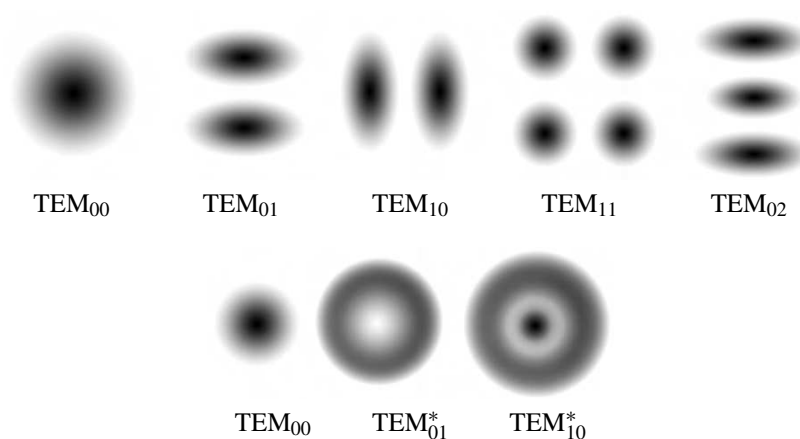
¹⁰ Laserový zesilovač se proto nazývá také *koherentní optický zesilovač*.

- Laser emituje postupné vlnění se zanedbatelnými fázovými nestabilitami – je *časově koherentní*. S tím je svázaná *vysoká přesnost frekvence (monochromaticnost)* laserového záření. Frekvence viditelného světla je řádově 10^{15} Hz, typická frekvenční šířka laseru se pohybuje od 10^8 Hz do 10^9 Hz, tj. relativně 10^{-6} až 10^{-7} . Stabilizací lze fluktuace frekvence redukovat o mnoho řádů, např. u helium-neonového laseru byly naměřeny krátkodobé fluktuace menší než 10 Hz.
- Laser umožňuje generovat extrémně krátké světelné pulsy. Při použití pulsního laseru lze v úzké oblasti vlnových délek uvolnit optický výkon mezi 10^{10} W až 10^{13} W. Vysoká intenzita elektrického pole v takto intenzivním laserovém svazku vedla k odhalení zcela nových fyzikálních efektů interakce světla a hmoty (nelineární optika).

1.3.1. Laserový svazek

Příčný průběh intenzity laserového svazku je popsán transverzálním módem. Módy se označují TEM_{mn} , kde indexy m, n jsou korelovány s počtem uzlů ve směrech x, y (osu z klademe do osy svazku). Obrázek 1.8 ukazuje příklady rezonátorových módů nízkého řádu Hermitových–Gaussových a osově symetrických. U reálných laserů převládají Hermitovy–Gaussovy módy díky mírným odchylkám v rovnoběžnosti zrcadel a kontaminaci optiky.

Difrakce způsobuje, že se vlny svazku šíří i ve směru kolmém k ose svazku, a je fyzikálně nemožné dosáhnout absolutně kolimovaného svazku. Za určitých podmínek však je možné dosáhnout téměř neznamenného rozšiřování svazku. Pro



Obrázek 1.8. Hermitovy–Gaussovy (nahore) a osově symetrické rezonátorové módy (dole). Podle [18].

TEM₀₀-mód jsou poloměr křivosti vlnoplochy $R(z)$ a poloměr $1/e^2$ -obrysu¹¹ $w(z)$ popsány vztahy

$$R(z) = z \left[1 + \left(\frac{\pi w_0^2}{\lambda z} \right)^2 \right], \quad w(z) = w_0 \sqrt{1 + \left(\frac{\lambda z}{\pi w_0^2} \right)^2}, \quad (1.14)$$

kde z je souřadnice položená do osy svazku, λ je vlnová délka a w_0 je poloměr $1/e^2$ -obrysu v rovině $z = 0$, kde je vlnoplocha rovinná (tzv. *opasek*, *waist*). Poloměr křivosti $R(z)$ je nekonečný na $z = 0$, pak nabývá minima na nějakém konečném z , a s rostoucím z monotónně roste (viz též obrázek 1.9 na straně 21).

Rozdělení jasu v průřezu svazku je pro TEM₀₀-mód dáno Gaussovým rozdělením

$$I(r) = I_0 e^{-\frac{2r^2}{w^2}} = \frac{2P}{\pi w^2} e^{-\frac{2r^2}{w^2}}, \quad (1.15)$$

kde $w = w(z)$ a P je celkový výkon svazku. Vztahy (1.14) přecházejí asymptoticky, pro $z \gg \pi w_0^2/\lambda$, na

$$R(z) \approx z, \quad w(z) \approx \frac{\lambda z}{\pi w_0}, \quad (1.16)$$

takže $1/e^2$ -obrys se asymptoticky přibližuje ke kuželi s úhlovým poloměrem (viz obrázek 1.10 na straně 21)

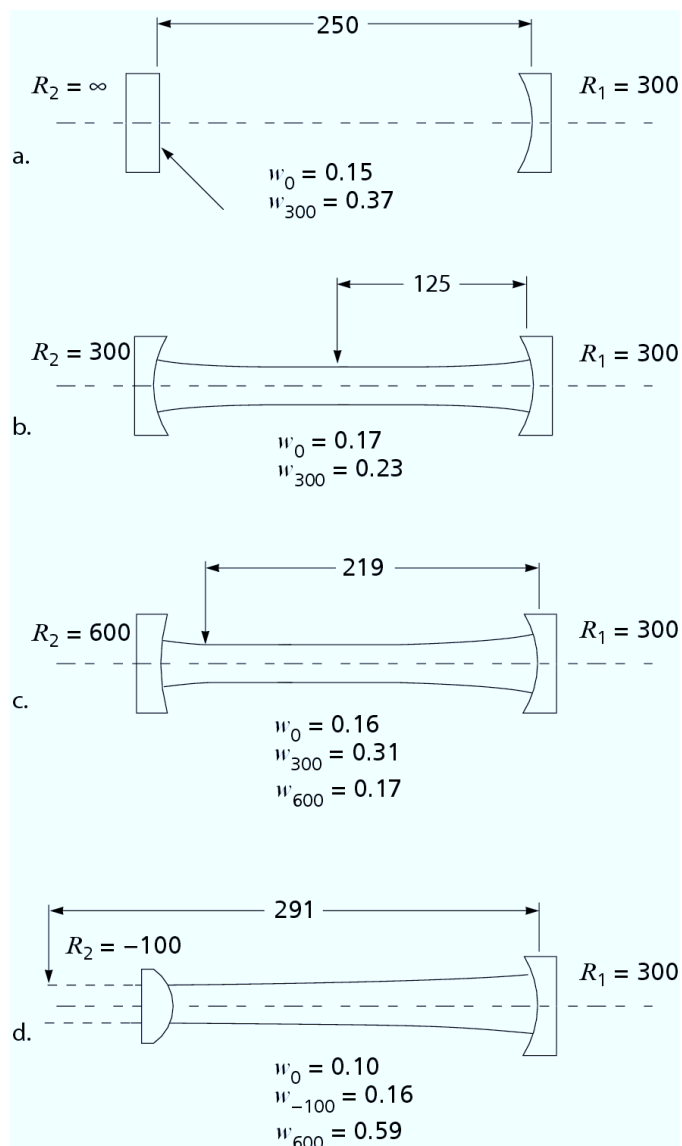
$$\theta \equiv \frac{w(z)}{z} = \frac{\lambda}{\pi w_0}. \quad (1.17)$$

Pro interaktivní znázornění vlastností svazku doporučujeme vyzkoušet demonstraci <http://demonstrations.wolfram.com/GaussianLaserModes/>.

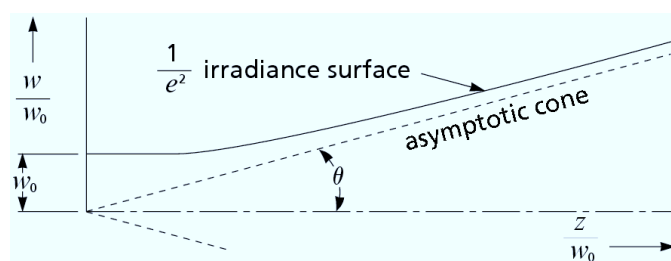
1.4. Klasifikace laserů

Laserové systémy mohou být rozděleny podle různých kritérií. Nejčastěji se třídí podle druhu aktivního prostředí, generované frekvence (vlnové délky), typu kvantových přechodů, typu čerpání (buzení), časového režimu provozu laseru a délky trvání generovaného impulsu.

¹¹ Tj. poloměru, kde intenzita klesne na $1/e^2$ oproti intenzitě na ose.



Obrázek 1.9. Lokalizace opasku v závislosti na geometrii zrcadel. Podle [18].



Obrázek 1.10. Závislost $1/e^2$ -poloměru svazku na vzdálenosti od opasku. Podle [18].

Tabulka 1.1. Klasifikace laserů. Zpracováno podle [20, 23, 24, 27].

Typ laseru	Aktivní prostředí	Generovaná λ	Spektrální oblast	Buzení
<i>Pevnolátkové</i>	<i>diel. krystaly, skla</i>			<i>optické</i>
Rubínový laser	$\text{Al}_2\text{O}_3 : \text{Cr}^{3+}$	694.3 nm	červená	
Nd:YAG laser	$\text{Y}_3\text{Al}_5\text{O}_{12} : \text{Nd}^{3+}$	1064.1 nm	IR	
Ho:YAG laser	$\text{Y}_3\text{Al}_5\text{O}_{12} : \text{Ho}^{3+}$	2.1 μm	IR	
Er:YAG laser	$\text{Y}_3\text{Al}_5\text{O}_{12} : \text{Er}^{3+}$	2.94 μm	IR	
Titan-safírový laser	Ti, Al_2O_3	690–1000 nm	červená, IR	
Alexandritový laser	$\text{Al}_2\text{BeO}_4 : \text{Cr}^{3+}$	700–818 nm	červená, IR	
Neodymový laser	$\text{SiO}_2 : \text{Nd}_2\text{O}_5$; $\text{P}_2\text{O}_5 : \text{Nd}_2\text{O}_5$	1.0623 μm	červená, IR	
Nd:YLF laser	LiYF_4	1053 nm	červená, IR	
Polovodičové lasery	vlastní polovodiče příměs. polovodiče			elektron. svazkem elektric. proudem
<i>Plynové</i>	<i>plyny, plynné směsi</i>			<i>optické</i>
<i>Plynové – atomární:</i>				
He-Ne laser	He-Ne	543 nm, 633 nm	zelená, červená, červeno-oranžová	vysokonapětový doutnavý el. výboj
Měděný laser	Cu	510 nm, 578 nm	zelená	el. výboj
Jodový laser	I	342 nm, 612 nm, 1315 nm	UV, viditelné, IR	fotodisociace
Xenonový laser	Xe, Ne, He	140 vlnových délek	viditelné, IR	
<i>Plynové – iontové:</i>				
Argonový laser	Ar	488 nm, 514 nm	modrá, zelená	el. výboj o malém napětí
Helium-kadmiový laser	He, Cd	325 nm, 442 nm	UV, modrá	el. výboj
<i>Plynové – molekulární:</i>				
Vodíkový laser	H_2	100–120 nm 140–165 nm	UV	el. výboj
CO_2 laser	CO_2	10.6 μm	IR	el. výboj, chem. r., expanze plynu
CO laser	CO	5–6.5 μm	IR	el. výboj
Excimerové lasery	ArF, KrCl, KrF XeCl, XeF	193–351 nm	UV	el. výboj, svazek elektronů
Dusíkový laser	N_2	337 nm	UV	
HF laser	HF	2.7 μm	IR	chemické
H_2O laser	H_2O	118.6 μm , 220.2 μm	UV	rezonanční
HCN laser	HCN	331 μm , 337 μm	UV	optické
<i>Kapalinové lasery</i>	<i>kapaliny, organická barviva</i>			<i>optické</i>
Rhodamin 6G laser	$\text{C}_{28}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_3\text{Cl}$	570–650 nm	žlutá, oranžová, červená	
Kumarin C30 laser	$\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_2$	504 nm	zelená	
<i>Plazmatické lasery</i>	<i>plazma</i>			<i>rekombinační</i>

V Tabulce 1.1 na straně 22 je uveden přehled nejběžnějších typů laserů spolu s uvedením aktivních prostředí, metodami buzení, generovanými vlnovými délkami a oblastmi spektra.

Podle aktivního prostředí se lasery dělí na

- pevnolátkové (do této kategorie spadají i polovodičové lasery),
- plynové,
- kapalinové,
- plazmatické.

Podle vlnové délky generovaného záření se lasery dělí na¹²

- infračervené lasery (viz též poznámku pod čarou 5 na straně 10),
- lasery viditelného pásma,
- ultrafialové lasery,
- rentgenové lasery.

Podle typu kvantových přechodů¹³ se lasery dělí na

- elektronové lasery,
- molekulární lasery (rotační, rotačně-vibrační, vibrační),
- jaderné lasery (jaderná fúze, gaser).

Podle typu čerpání se lasery dělí na

- opticky čerpané,
- čerpané elektrickým výbojem,
- čerpané elektrickým proudem (laserové diody),
- čerpané chemickou reakcí,
- čerpané elektronovým svazkem,
- čerpané tepelnými změnami,
- čerpané rekombinací.

Podle doby trvání generovaného impulsu se lasery dělí na

- lasery s dlouhými impulsy,
- lasery s krátkými impulsy,
- lasery s velmi krátkými impulsy (pikosekundové až femtosekundové).

Podle časového režimu provozu se lasery dělí na

- impulsní lasery (100 fs až 100 ps),
- pulsní lasery (5 ns až 500 ns),
- kontinuální lasery.

¹² Lasery pracující v mikrovlnné oblasti se nazývají masery.

¹³ Tj. podle typu energetických hladin zúčastněných při laserovém kvantovém přechodu.

1.5. Konstrukce laserů

Základem každého laseru je rezonátor s aktivním médiem, který určuje vlnovou délku záření (viz obrázek 1.6). Pro dosažení metastabilního stavu atomů aktivního média se používá pumpovací energie. Zdrojem pumpovací energie může být optický, chemický, termický nebo elektrický podnět. Výkon generátoru a konstrukce zrcadel určuje optický výkon laseru. Zrcadla slouží k mnohačetným odrazům fotonů generovaných stimulovanou emisí a tím dochází k lavinovité generaci dalších fotonů (viz sekce 1.2). Překročením prahové výkonové hustoty polopropustného zrcadla dojde k jeho otevření a výstupu fotonů z rezonátoru.

1.5.1. Pevnolátkové lasery

Obecně lze říci, že mezi pevnolátkové lasery patří všechny lasery, jejichž aktivní prostředí se nachází v pevném stavu. Za pevnolátkové lasery jsou považovány opticky čerpané pevnolátkové iontové lasery. Pevnolátkové lasery můžeme rozdělit podle vodivosti aktivního prostředí na polovodičové lasery a izolanty. Dále je můžeme rozdělit na pevnolátkové iontové lasery a na lasery s „barevnými“ centry.

Aktivní prostředí těchto laserů je tvořeno maticí – *krystalickou* nebo *amorfní* (sklo, keramika), která je dopována vhodnými ionty. Různými kombinacemi matic a dopantů existuje mnoho pevnolátkových laserů.

Mezi krystalické materiály patří oxidy (např. safír, rubín); granáty (např. YAG – yttrium aluminium granát); alumináty (např. YALO, YAP); fluoridy; oxysulfidy; fosfáty a silikáty. Amorfni materiály jako skla jsou homogenní a jejich výroba je poměrně snadná. Nevýhodou je menší tepelná vodivost.

Aktivátory pevnolátkových laserů jsou atomy nebo ionty umístěné v matici a účastní se procesu generace optického záření. Jejich výběr je dán požadavky na materiály pevnolátkových laserů, které mají mít

- nejmenší šířku spektrální čáry na kvantovém přechodu;
- vysoký kvantový výtěžek luminiscence;
- silné absorpční pásy, které zvyšují účinnost buzení;
- spodní hladina by měla být rychle uvolňována.

Pevnolátkové lasery mohou pracovat ve všech možných režimech, jsou flexibilní, generované vlnové délky pokrývají viditelnou a infračervenou oblast. Výhodou pevnolátkových laserů je jejich robustnost, jsou stabilní a nekladou velké nároky na údržbu a provoz.

1.5.2. Kapalinové (barvivové) lasery

Aktivní prostředí kapalinových laserů jsou roztoky organických barviv. Organická barviva mají široká absorpční pásma ve viditelné a blízké ultrafialové oblasti spektra. Výběrem vhodného barviva a využitím metod nelineární optiky lze prakticky spojitě pokrýt pásmo vlnových délek od $0.3\text{ }\mu\text{m}$ až do $1.3\text{ }\mu\text{m}$. Aktivním prostředím barvivových laserů jsou např. Rhodamin 6G, Rhodamin B, Fluorescein, Alizarin a různé Coumariny. Xynthenová barviva absorbují a emitují záření ve viditelné oblasti spektra.

Pro buzení barvivových laserů se užívá optického záření. Optické buzení může být nekoherentní nebo koherentní, pulsní nebo kontinuální, příčné nebo podélné. Pro buzení lze také použít světlo jiného laseru, např. dusíkového, nebo světlo z výbojky.

Výhodou barvivových laserů je možnost generace vlnových délek širokého spektra barev, homogenita aktivního prostředí a možnost generace velmi krátkých impulsů (až 6 fs). Nevýhodou barvivových laserů je toxicita a krátká životnost barviva, které se účinkem tepla a světla rozkládá.

Pro široké fluorescenční spektrum se barvivových laserů využívá především ve spektroskopii a medicíně (fotodynamická terapie – rozpadem barviva na volný kyslík se ničí rakovinové buňky).

Kapalinové lasery lze ladit umístěním difrakční mřížky do rezonátoru. Natáčením difrakční mřížky se mění barva výsledného světla.

1.5.3. Plynové lasery

Plynové lasery jsou lasery s aktivním prostředím v plynné fázi. Inverze populace je tvořena mezi energetickými hladinami některé ze složek plynu (atomy – atomární lasery; ionty – iontové lasery; molekuly – molekulární lasery). Pracují převážně v kontinuálním režimu, ale mohou pracovat i v impulsním režimu.

Při průchodu aktivním prostředím je optický svazek méně deformován. Rozbíhavost vystupujícího svazku je malá a blíží se tzv. difrakční mezi. Šíře spektrálních čar jsou menší, proto lze dosáhnout stabilní frekvence vystupujícího svazku.

Plynové lasery lze budit vysokonapětovým doutnavým elektrickým výbojem, elektrickým proudem o malém napětí (argonový laser), průchodem rychlých elektronů, expanzí stlačeného plynu (CO_2 laser) nebo chemickou reakcí. Optické buzení se používá zřídka.

Existuje mnoho druhů plynových laserů, např. argonový (modrý, zelený), laser s parami Cu (zelený), dusíkový laser (UV), jódový laser (viditelné, IR).

Přehled plynových laserů je uveden v Tabulce 1.1. Nejznámějším plynovým laserem je He-Ne laser, nejvíce používaným pak CO₂ laser.

1.5.4. Plazmatické lasery

Inverze populace je vytvářena uvnitř chladicího plazmatu. Při relaxaci plazmatu dochází k rychlejší depopulaci spodních energetických hladin. Plazmatické lasery jsou jednou z možností k vytvoření rentgenového laseru (zdroj koherentního rentgenového záření).

1.5.5. Polovodičové lasery

Polovodičové lasery využívají aktivního prostředí vlastních polovodičů (vykazují vlastní vodivost, mají stejný počet vodivostních elektronů a děr) nebo příměso- vých polovodičů (polovodiče typu P a N).

Funkce polovodičového laseru je založena na vzniku stimulované emise záření v aktivním polovodičovém materiálu při kvantových přechodech elektronů z vodivostního do valenčního energetického pásu¹⁴. V aktivním polovodičovém prostředí je možné dosáhnout velkého optického zesílení. Koherentního záření je možné dosáhnout pouze inverzí populace v aktivním prostředí a vzniku kladné zpětné vazby. Inverze populace se dosahuje injekcí nosičů nebo PN přechodem. Kladná zpětná vazba se obvykle vytvoří dvěma polopropustnými zrcadly rezonátoru (rozdílem lomu na rozhraní krystal-vzduch je zajištěn dostatečný odraz těchto zrcadel). Polovodičové lasery mohou být buzeny elektronovým svazkem nebo elektrickým proudem.

Hlavní předností polovodičových laserů je jejich kompaktnost, zisk až 70 %, možnost spektrálního přeladění v širokém spektrálním pásmu, výběr aktivního prostředí v rozsahu vlnových délek 0.3–30 μm. Nevýhodou je pak široká rozbíhavost svazku, závislost parametrů generovaného záření na teplotě použitého polovodičového materiálu a problém chlazení laserů (přechod elektronů do vyšší energetické hladiny způsobí zvýšení teploty, a tím dojde ke snížení koncentrace elektronů v blízkosti valenčního pásu).

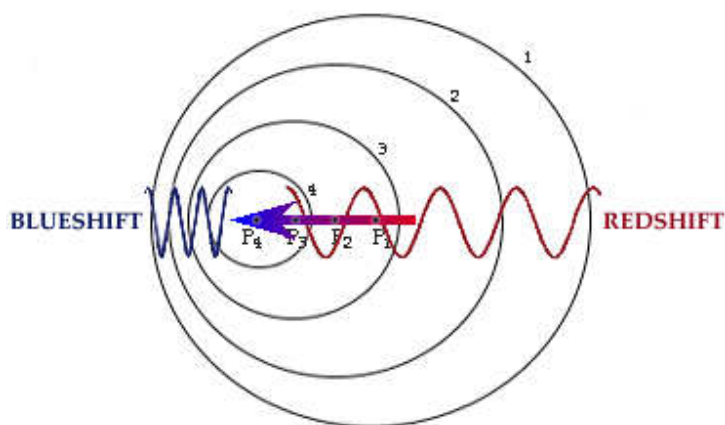
¹⁴ Při rekombinaci zaplní elektron místo v nenasycené vazbě – elektron se přemístí do valenční sféry. Přebytkové množství energie se zbaví buď postupně po malých skocích za vzniku fotonů, které krystal zahřívají (proto se Si na polovodičové lasery nepoužívá), nebo najednou za vzniku zářivého přechodu. Počet takových rekombinací je přímo úměrný procházejícímu proudu (vznik laserového světla nastane až od určité proudové intenzity v PN přechodu).

1.6. Laserová dopplerometrie

1.6.1. Dopplerův jev

Dopplerův jev (také nazývaný Dopplerův posuv nebo dopplerovský posuv) je změna frekvence vlnění vysílaného zdrojem, jenž je v relativním pohybu vzhledem k pozorovateli (příjemci, posluchači, detektoru). Při vzájemném přibližování zdroje a pozorovatele dochází ke „zhušťování“ vln a tím ke zkracování vlnové délky a zvyšování frekvence, naopak při vzájemném vzdalování zdroje a pozorovatele dochází k „natahování“ vln a tím k prodlužování vlnové délky a snižování frekvence (viz obrázek 1.11).

Efekt se týká nejen zvuku, ale i světla a dalších druhů vlnění. Rozhodující veličinou je poměr vzájemné rychlosti zdroje a pozorovatele v k rychlosti šíření daného druhu vlnění, tedy v případě světla $c = 2.9979 \times 10^8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ (viz *Vybrané fyzikální konstanty* na straně xvii), v případě zvuku ve vzduchu je rychlost šíření vlnění okolo $c = 340 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$. (Rychlost zvuku závisí na termodynamickém stavu vzduchu, a v jiných materiálech, ať už plynných, kapalných či pevných se liší, mnohdy i řádově [7].)



Obrázek 1.11. Schematické znázornění Dopplerova jevu. Zdroj vlnění se pohybuje zprava doleva ve směru šipky. Číslo vlnoplochy koresponduje s čísly pozic zdroje, z nichž byly odpovídající vlnoplochy emitovány. Pozorovatel vlevo, k němuž se zdroj přibližuje, naměří vyšší frekvenci než je vlastní frekvence zdroje ν_0 (střed viditelné oblasti se posouvá k modrému konci spektra, proto modrý posuv, blueshift). Pozorovatel vpravo, od něž se zdroj vzdaluje, naměří nižší frekvenci než je vlastní frekvence zdroje ν_0 (střed viditelné oblasti se posouvá k červenému konci spektra, proto červený posuv, redshift).

Přesněji řečeno, rozhodující veličinou je průmět vzájemné rychlosti zdroje a pozorovatele do spojnice mezi nimi, takzvaná radiální komponenta vzájemné rychlosti

$$v_r = v \cos \theta, \quad (1.18)$$

kde θ je úhel sevřený vektorem mířícím od zdroje k pozorovateli (vlnovým vektorem vlnění) a vektorem rychlosti \mathbf{v} (viz též obrázek 1.12). Radiální komponenta vzájemné rychlosti je kladná při vzdalování ($0 \leq \theta < \pi/2$), záporná při přibližování ($\pi/2 < \theta \leq \pi$). Odtud je rovněž jasné, proč v běžném životě pozorujeme Dopplerův jev jen v akustice. Je totiž poměrně snadné pohybovat se rychlostí takovou, aby její poměr k rychlosti zvuku ve vzduchu za obvyklých podmínek měl dostatečnou hodnotu, než v případě poměru k rychlosti světla.¹⁵

Označíme-li ν_0 frekvenci vysílanou zdrojem, pak frekvence ν přijímaná pozorovatelem je

$$\nu = \frac{\nu_0}{1 + \frac{v_r}{c}}, \quad (1.19)$$

kde v_r je projekce (1.18) relativní rychlosti pozorovatele a zdroje do spojnice mezi nimi. V případě, že v_r je mnohem menší než c , lze vztah (1.19) s přesností do členů prvního řádu přepsat ve tvaru

$$\nu = \nu_0 \left(1 - \frac{v_r}{c} \right), \quad (1.20)$$

a pro změnu frekvence $\Delta\nu \equiv \nu - \nu_0$ platí

$$\Delta\nu = -\nu_0 \frac{v_r}{c}. \quad (1.21)$$

Při vzdalování zdroje a pozorovatele ($v_r > 0$) tedy dochází k poklesu pozorované frekvence, při přibližování ($v_r < 0$) ke zvýšení pozorované frekvence. Pohybuje-li se zdroj vůči pozorovateli striktně transversálně ($\theta = \pi/2$), je projekce relativní rychlosti v_r nulová a ke změně frekvence nedochází. Striktně řečeno, v relativistickém případě má vztah pro Dopplerův jev tvar

$$\nu = \nu_0 \frac{1 - \left(\frac{v}{c}\right)^2}{1 + \frac{v_r}{c}}, \quad (1.22)$$

¹⁵ Dánský meteorolog Buys-Ballot provedl k ověření Dopplerova jevu slavný pokus. Posadil skupinu hudebníků do vlaku. Přikázal strojvedoucímu rozjet vlak na nejvyšší možnou rychlost, zatímco on sám zaujal pozici pozorovatele na nástupišti. Hudebníci v rychle jedoucím vlaku hráli tón konstantní výšky, a při míjení nástupiště byl Buys-Ballot schopen změřit velikost Dopplerova jevu (změny výšky tónu) [28].

který dává pro transversální pohyb nenulovou změnu frekvence (v čitateli zlomku není projekce v_r , nýbrž celková velikost rychlosti). Tomuto jevu se nesprávně říká příčný Dopplerův jev. Ve skutečnosti však s Dopplerovým jevem nemá nic společného, jedná se o relativistický jev známý jako dilatace času. Pro řadu aplikací, kdy $v \ll c$, je kvadrát v čitateli (odpovídající dilataci času) druhého řádu velikosti vzhledem k Dopplerově jevu (jmenovatel) a lze jej bezpečně zanedbat. Pro ilustraci, při měření průtoku krve je rychlost řádu $10^{-1} \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$, takže dopplerovský člen v/c je řádu 10^{-9} , kdežto relativistický člen $(v/c)^2$ je řádu 10^{-18} , což je zcela zanedbatelné oproti dopplerovskému členu.

Pro interaktivní znázornění Dopplerova jevu doporučujeme vyzkoušet tyto demonstrace:

- <http://demonstrations.wolfram.com/IntroductionToTheDopplerEffect/>
- <http://demonstrations.wolfram.com/TheDopplerEffect/>
- <http://demonstrations.wolfram.com/DopplerEffect/>

1.6.2. Měření rychlosti pomocí Dopplerova jevu

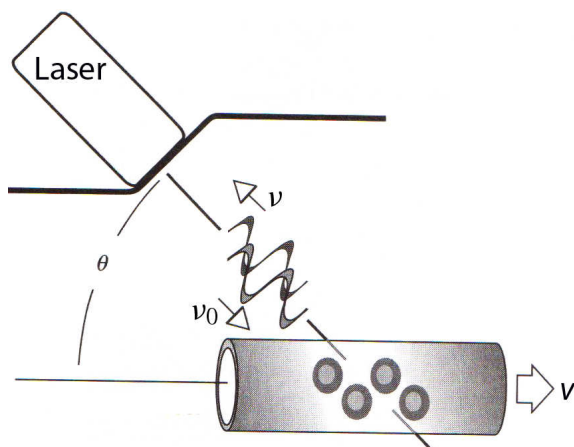
Uvažujme uspořádání podle obrázku 1.12 na straně 30. Zdroj záření (typicky laser) vysílá fotony na frekvenci ν_0 , jež se odráží (mimo jiné) od objektů pohybujících se rychlostí v (např. od krevních erytrocytů). Vektor v svírá se spojnici laser-objekt úhel θ . Dopplerův jev se tedy uplatňuje dvakrát. Odrážející objekt pohybující se vůči zdroji radiální rychlostí (1.18) „vnímá“ frekvenci posunutou o hodnotu $\Delta\nu$ a sám se stává zdrojem odraženého záření o frekvenci $\nu_1 = \nu_0 + \Delta\nu$, jenž je následně detekováno v tomtéž zařízení, které obsahuje i zdroj původního záření. Protože se detektor pohybuje vůči odrážejícímu objektu opět se stejnou radiální rychlostí, bude detekovaná frekvence ν dána uplatněním na „novou“ frekvenci ν_1 danou (1.19), tj.

$$\nu = \frac{\nu_0}{\left(1 + \frac{v_r}{c}\right)^2}. \quad (1.23)$$

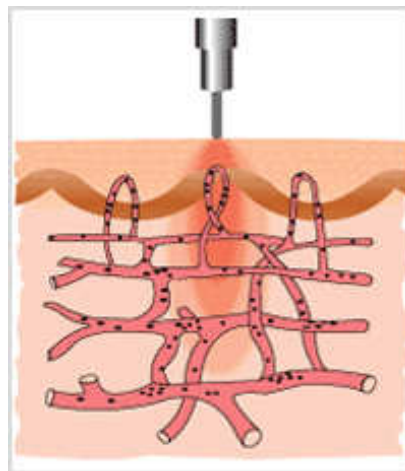
Je-li Dopplerův posuv $\Delta\nu$ malý vůči původní frekvenci ν_0 (což je obvyklý případ), dostaneme pro frekvenční posuv odraženého záření na detektoru linealizovaný vztah [7]

$$\Delta\nu = -2\nu_0 \frac{v_r}{c} = -2\nu_0 \frac{v \cos \theta}{c}. \quad (1.24)$$

Posun frekvence ν (1.24) závisí na úhlu dopadu θ . Často nás nezajímá hodnota rychlosti, ale spíše míra perfuze, tj. součin rychlosti a množství tekutiny přité-



Obrázek 1.12. K principu dopplerovské velocimetrie (dopplerometrie). Fotony jsou přijímány pohybujícími se objekty se změněnou frekvencí. Tyto objekty se samy stávají pohybujícími se zdroji záření se změněnou frekvencí. Detektor, vůči němuž se tyto sekundární zdroje pohybují, přijímá dvakrát změněnou frekvenci oproti frekvenci původní. Upraveno podle [7].



Obrázek 1.13. Princip laserového dopplerovského perfuzního zobrazování (LDPI). Laserové záření proniká do kůže, kde je rozptýlováno jednak statickými, jednak pohyblivými strukturami (krevními elementy). Intenzita a dopplerovský frekvenční posuv záření rozptýleného zpět do detektoru je podrobena analýze, na jejímž základě je stanovena krevní perfuze. Upraveno podle [29].

kající k vyšetřovanému povrchu a zase od něho odtékající zpět.¹⁶ V takovém případě bude část fotonů pronikajících do vyšetřované matrice (kůže) a rozptýlených pohyblivými elementy (typicky erytrocyty) podléhat dopplerovskému posuvu, zatímco část fotonů rozptýlených statickými strukturami nebude mít frekvenci změněnu (viz obrázek 1.13). Část záření rozptýlená zpět do fotodetektoru v blízkosti zdroje (laseru) bude tedy tvořena směsí dopplerovsky posunutých a neposunutých fotonů. Kromě toho bude posun individuálního fotonu záviset na rychlosti v i na úhlu θ . Za předpokladu stacionárního proudění se úhel θ efektivně vystředuje. Výsledkem je deformace spektra původního monochromatického záření.

¹⁶ Perfuze – průtok krve (nebo jiné tekutiny) tkání, orgánem. Dostatečná perfuze krve je nezbytná pro jejich správnou funkci, zabezpečuje zásobení kyslíkem a živinami a odplavení zplodin látkové výměny. Je ovlivňována krevním tlakem, činností srdce, množstvím krve a tekutin v organismu, místním stavem a potřebami (vazokonstrikcí, vazodilatací, řízení nervově či humorálně [30].

Smísení fotonů s různými hodnotami Dopplerova posuvu ve fotodetektoru způsobí modulaci proudu produkovaného fotodetektorem: větší Dopplerův posuv vyvolá vyšší frekvenci proudu, zatímco magnituda fluktuující části proudu je úměrná počtu pohyblivých rozptylových center. Z proměnného proudu fotodetektoru je pak po filtraci možné odvodit signál úměrný perfuzi, tj. průměrné rychlosti krát koncentrace rozptylových center [14].

Pro úplnost zmíníme technologii monitorování perfuze LASCA,¹⁷ která není založena na Dopplerově jevu jako LDPI. Metoda LASCA kombinuje vysoké rozlišení a rychlost, a její podstata metody LASCA spočívá v následujícím: tkáň ozářená laserovým svazkem vytváří na svém povrchu interferenční vzorek (*speckle pattern*). Pokud je ozářená tkáň statická, je specklový vzorek konstantní. Obsahuje-li však tkáň pohybující se částice, jako jsou krevní elementy, bude specklový vzorek v čase fluktuovat. Systém PeriCam PSI tyto změny specklových obrazců zaznamenává CCD kamerou.

V závislosti na míře pohybu v zobrazované oblasti se liší míra fluktuací (čím více je v oblasti, do níž svazek proniká a v níž se rozptyluje, pohybu, tím více bude interferenční obrazec fluktuovat). Úroveň rozostření je kvantifikována specklovým kontrastem. Bylo zjištěno, že kontrast je korelován s krevní perfuzí. Specklový kontrast je definován jako poměr mezi směrodatnou odchylkou intenzity a střední intenzitou. Čím více se snímáný objekt pohybuje, tím více bude obraz rozostřený a směrodatná odchylka intenzity bude klesat, proto bude specklový kontrast nižší a naopak, při absenci pohybu bude specklový kontrast vyšší, protože směrodatná odchylka se bude zvyšovat, přičemž průměrná intenzita zůstane beze změny. Systém PeriCam PSI zaznamenává krevní perfuzi pomocí arbitrárních perfuzních jednotek (PU). K přesnému srovnání výsledku je každý přístroj výrobcem kalibrován (kalibrační sada je součástí PeriCam PSI a umožňuje tak průběžnou kalibraci a nastavení) [31]. Kvalita skenů pořízených metodou LASCA nedosahuje rozlišení LDPI, ale má velkou výhodu v kratším čase pořízení skenu.

¹⁷ *Laser Speckle Contrast Analysis*, laserová specklová analýza kontrastu.

Kapitola 2

Medicínské aplikace

Pro aplikace laserové dopplerometrie v oblasti popálenin a specifickému zaměření této diplomové práce v této kapitole uvádíme stručný popis anatomických a fyziologických vlastností kůže. Tyto znalosti jsou nezbytné pro porozumění biologických účinků laserového záření při jeho interakci s tkání.

Tato kapitola nepřináší žádný vlastní výsledek a byla zpracována kompilačním způsobem převážně podle knih a článků [27, 32–39].

2.1. Anatomie kůže

Kůže (cutis, derma) tvoří souvislý povrch lidského těla. Váží cca 3 kg (s podkožní tukovou tkání dohromady asi 20 kg) a je tak nejtěžším a největším orgánem lidského těla. Plošný obsah kůže u dospělého jedince činí cca 2 m², u novorozence cca 0.2 m². Pro výpočet plošného obsahu tělesného povrchu (BSA) slouží formule DuBoisových [34, 35]

$$BSA [m^2] = (W^{0.425} \times H^{0.725}) \times 0.007184, \quad (2.1)$$

kde W je hmotnost v kilogramech a H je výška v centimetrech. Tloušťka kůže bez podkoží je nejmenší na očních víčkách (0.1 mm), nejsilnější na dlaních a chodidlech (3.6 mm).

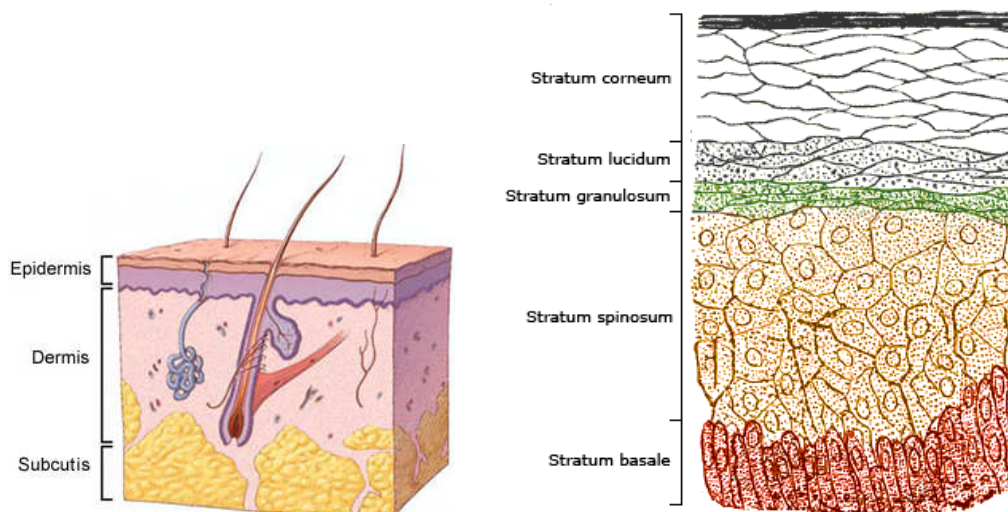
Kůži tvoří tři integrované vrstvy (viz obrázek 2.1 na straně 34 vlevo):

Epidermis: tloušťka cca 0.15 mm, povrchová vrstva,

Dermis: tloušťka cca 0.5–0.7 mm, dermální vrstva „škára“,

Tela subcutanea: podkožní vrstva.

Epidermis slouží jako primární bariéra proti mechanickému poškození, vysychání a průniku mikroorganismů. V epidermis se nenalézají žádné cévy, je tvořena rohovatějším dlaždicovým epitelem. V epidermis se nalézají buňky: keratinocyty, korneocyty, Langerhansovy buňky (imunitní reakce kůže), Merkelovy



Obrázek 2.1. Průřez vrstvami kůže. Vlevo: Tři základní vrstvy kůže (podle <http://www.riversideonline.com/>). Vpravo: Pět vrstev epidermis (podle <http://cs.wikipedia.org/wiki/Kůže>).

buňky (senzorické) a melanocyty, tvořící kožní pigment (melanin). K obnově epidermis dochází během 15–30 dní mitotickou aktivitou stratum germinativum.¹ Epidermis je složena z pěti vrstev (viz obrázek 2.1 vpravo):

Stratum basale: zárodečná vrstva, nejhluběji uložená, tvořena cylindrickými buňkami, mezi stratum basale a dermis probíhá dermo-epiteliální junkce, která se podílí na řízení transportu proteinů a ukotvení buněk stratum basale.

Stratum spinosum: ostnitá vrstva tvořena 5–6 řadami kuboidních buněk, které jsou spojeny desmozomy (velmi pevný buněčný spoj).

Stratum granulosum: zrnitá vrstva, 1–3 vrstev oploštělých polygonálních buněk obsahující keratohyalin, který se podílí na výstavbě keratinu, centrálně uložené jádro.

Stratum lucidum: světlá vrstva, která je složena z bezjaderných enzymaticky vysoce aktivních buněk, keratinizací vzniká eleidin (lipoproteinová acidofilní světlolomná substance). Eleidin se pod mikroskopem jeví jako homogenní transparentní vrstva, chrání epidermis před působením vodných roztoků.

Stratum corneum: 1.4–6.2 μm , rohová vrstva, nejpovrchnější vrstva kůže, skládá se z 15–20 vrstev bezjaderných, zcela oploštělých buněk obsahujících korneocyty (keratinizované buňky).

¹ Stratum germinativum – zárodečná vrstva epidermis; souhrnné označení pro stratum basale a stratum spinosum. Buňky této vrstvy se dělí a postupně doplňují odumřelé zrohovatělé buňky ve vyšších vrstvách.

Dermis (corium) se skládá ze dvou vrstev: stratum papillare corii (zevní vrstva) a stratum reticulare corii tvořící síť kolagenních a elastických vláken (stratum reticulare corii). Kolagenová vlákna jsou pevná, pružná a odolná vůči tahu. Elastinová (elastická) vlákna vytvářejí v kolagenním vazivu velmi jemnou síť, jsou vysoce elastická a na rozdíl od kolagenu jsou odolná vůči varu. V dermis se dále nacházejí cévy, nervová zakončení, Meissnerova tělíska, která slouží k dotykovému cití a adnexa (vlasy, chlupy, nehty, mazové a potní žlázy).

Tela subcutanea (hypodermis) je podkoží, které je tvořeno řídkým vazivem a tukem, nejtenčí část je na očních víčkách, nejsilnější na hýždích, břiše a stehnech. Chrání hlouběji uložené orgány proti mechanickým a tepelným vlivům a slouží jako rezervoár energie.

2.2. Funkce kůže

Zde uvedme heslovitě jednotlivé funkce kůže, které zajišťují důležité fyziologické mechanismy kůže [32].

Bariérová funkce slouží jako ochrana před mechanickými, chemickými vlivy a UV zářením.

Resorpční funkce resorbuje látky rozpustné v tucích (vitamíny A, D, E, K, hormony), ale i toxické látky (kyanovodík, anilin – průmyslové otravy).

Sekreční funkce sekrece mazových a potních žláz, CO₂, dusíkaté látky, lipidy, H₂O a soli (NaCl).

Termoregulační funkce změnami průsvitu cév prostřednictvím AV anastomóz (zkraty) dochází k rychlým změnám prokrvení, odpařování potu.

Metabolická funkce keratinizace, specifické uspořádání krevního zásobení – málo kapilár, AV anastomózy.

Percepční funkce (vnímání) tepelné (Ruffiniho tělíska – teplo, Krauseho koncové paličky – chlad), taktilní cití (Merkelova tělíska v epidermis – hmat; Wagnerova–Meissnerova tělíska v dermis – dotyk; Vater–Paciniho tělíska v subcutis – tlak a vibrace); nocicepce – vnímání bolesti;² ostatní – pruritus,³ vibrace, pocit sucha a vlhkosti; kombinovaná percepce způsobená různými faktory.

² Nociceptory jsou volná nervová zakončení zodpovědná za percepci bolesti. Jsou uloženy v periferních tkáních (především v kůži, ale i ve svalech, kloubech, šlachách, fasciích, periostu) a také centrálně.

³ Pruritus – svědění.

Imunitní funkce samočisticí funkce brázdičkami kožního reliéfu (mikroorganismy, nečistoty) do folikulárních ústí, autodezinfekční procesy (kožní maz, kyselé pH tlumí růst a vývoj mikroorganismů).

Depotní funkce podkožní tukový polštář slouží jako tepelný izolátor, rezervoár energie, vody a solí.

Psychosociální funkce nonverbální komunikace.

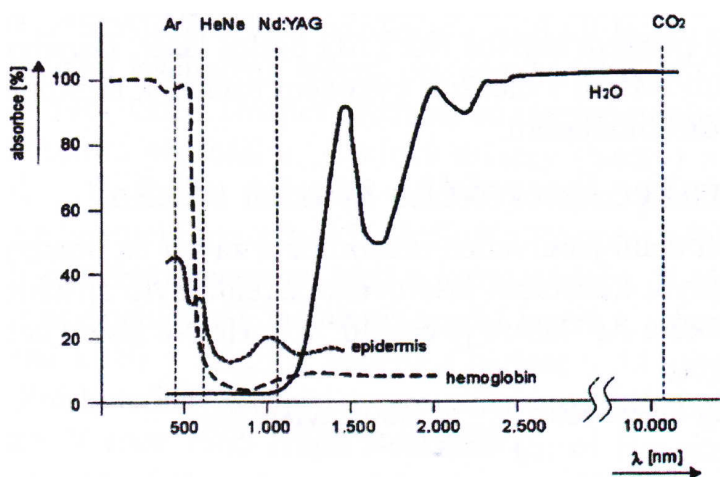
Ztráta některých kožních funkcí podle rozsahu a hloubky způsobí destrukci kožního povrchu a dochází ke kožním defektům a poraněním.

2.3. Interakce laserového záření s kůží

Znalost optických vlastností kůže je nezbytná k porozumění biologickým účinkům laserového záření. Ačkoli optické vlastnosti kůže mohou být zkoumány v přirozeném (ne-laserovém) světle budeme se dále odkazovat právě na laserové světlo zejména kvůli jeho unikátním spektrálním vlastnostem.

Vrstvy kůže mají rozdílné indexy lomu a rozdělení absorpčních částic (chromoforů⁴), které způsobují rozdílný odraz, přenos a rozptyl v závislosti na vlnové délce (viz obrázek 2.2).

⁴ Chromofora je opticky aktivní barevná látka ve tkáni, která se stává absorpčním cílem pro určitý druh záření podle jeho vlnové délky. Např. hemoglobin absorbuje záření argonového laseru o vlnové délce 514 nm.



Obrázek 2.2. Absorpce laserového záření v závislosti na vlnové délce – optické okno kůže. V rozsahu vlnových délek 600–1300 μm je absorpce laserového záření v epidermis nejnižší. Podle [27].

Po dopadu laserového záření na tkáň dochází k odrazu a lomu, absorpci a rozptylu. Biologické účinky laserového záření závisí jak na technických parametrech laseru (vlnová délka a doba expozice), tak na fyzikálních vlastnostech tkáně (absorpce, rozptyl, tepelná vodivost, lokální cirkulace). Po odrazu od tkáně se část fotonů laserového světla vrací zpět na fázové rozhraní. Pokud jsou na povrchu tkáně nerovnosti menší než vlnová délka dopadajícího laserového záření, dochází k zrcadlovému odrazu. Kvantitativně lze tento druh odrazu postihnout splněním podmínky optické kvality [40]

$$\Delta \lesssim \frac{\lambda}{10}, \quad (2.2)$$

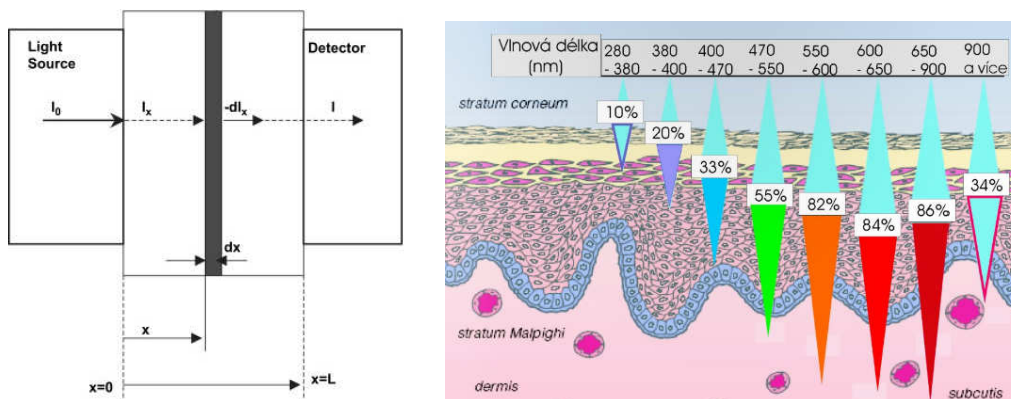
kde Δ je amplituda nerovností („zvlnění“) rozhraní, λ je vlnová délka světla. Naopak difúzní odraz můžeme pozorovat, když nerovnosti povrchu tkáně jsou větší než vlnová délka dopadajícího laserového záření,

$$\Delta \sim \lambda, \quad (2.3)$$

Průchodem fotonů tkání dochází částečně k rozptylu (odchylování z přímé dráhy vlivem nehomogenit prostředí, kterým částice prochází) a absorpci (pohlcení a zeslabení) laserového záření. Při pružném rozptylu nedochází ke ztrátě energie (foton vlnění má stejnou frekvenci a vlnovou délku), zatímco při nepružném rozptylu ke změnám energie dochází. Absorpci lze považovat za mezní případ nepružného rozptylu. Míru absorpce vyjadřuje absorpční koeficient. Na absorpci tkáně má vliv nejen absorpční koeficient (fotochemický aspekt), ale také rozptyl – tj. geometrie tkáně (hustota cévní stěny, obsah pevných látek, aj). Při průchodu laserového svazku tkání se na rozdílné absorpci významně podílejí tři složky :

1. voda,
2. hemoglobin,
3. melanin.

Hlavním parametrem, který určuje hloubku proniknutí laserového záření do tkáně, je absorpce tkáně pro danou vlnovou délku. Podle hloubky uložení tkáně volíme vlnovou délku použitého laseru. Obecně lze říci (v našem případě), že pro kratší vlnovou délku pozorujeme vyšší absorpci tkání. Kratší vlnová délka proto znamená menší hloubku průniku do tkání, ale současně i větší koncentraci energie v místě působení. V praxi to znamená, že pokud potřebujeme absorbovat energii záření především v povrchových vrstvách kůže, použijeme laser o kratší



Obrázek 2.3. Vlevo: Lambertův–Beerův zákon má tvar charakteristický pro situaci, kdy relativní úbytek intenzity $-dI/I$ je úměrný prošlému elementu dráhy dráze dx s koeficientem úměrnosti β : $-dI/I = \beta dx$. Řešením této diferenciální rovnice s počáteční podmínkou $I(0) = I_0$ obdržíme vztah (2.4). V případě součinitele absorpce závislého na hloubce vniku, $\beta(x)$, musí být vztah (2.4) modifikován do tvaru $I(x) = I_0 e^{-\int_0^x \beta(x') dx'}$. Podle [41]. Vpravo: Vztah mezi hloubkou proniknutí laserového záření tkání a vlnovou délkou. Podle [10, 37].

vlnové délce, a naopak pro absorpci v hlubších vrstvách kůže laser s vlnovou délkou 630–750 nm.

Pokles intenzity světla ve tkáni způsobený absorpcí je popsán Lambertovým–Beerovým zákonem (viz obrázek 2.3 vlevo).

$$I(x) = I_0 e^{-\beta x}, \quad (2.4)$$

kde $I(x)$ je intenzita světla prošlého vrstvou tkáně tloušťky x , I_0 je intenzita dopadajícího světla, a $\beta = \beta(\lambda)$ je součinitel absorpce (závisí na materiálu a vlnové délce světla – viz obrázek 2.3 vpravo).

V rozsahu vlnových délek 350 nm–1.06 μm klesá po průchodu tkání cca 3–4 mm silnou intenzita záření na 1 % své původní hodnoty. Podle množství absorbované energie ve tkáni dochází k různým efektům – laserové záření delších vlnových délek má především tepelné účinky, kratších vlnových délek fotochemické účinky. Kromě tepelných a fotochemických účinků se při interakci s tkání projevují také mechanické a ionizační účinky.

2.4. Vybrané typy laserů

Pro užší zaměření této diplomové práce níže uvádíme několik typů laserů, které se uplatňují převážně v lékařských a biomedicínských oborech. Dělení laserů v me-

dicínských oborech se dle citovaných zdrojů terminologicky liší, proto uvádíme obě kategorizace, přičemž není jednoznačné, která kategorizace se v lékařské praxi v ČR a ve světě používá. Studium několika zdrojů k této kategorizaci se jeví preference kategorizace II. Z použité terminologie vyplývá, že power lasery se shodují s označením operační lasery a soft lasery s označením terapeutické lasery.

Kategorizace I: Podle účinků laserového záření ve tkáni dělíme lékařské lasery do dvou skupin podle výkonové hustoty [36] (dělení laserů na operační a terapeutické je podle výkonové hustoty a nikoliv podle výkonu, jak se mnoho lékařů domnívá).

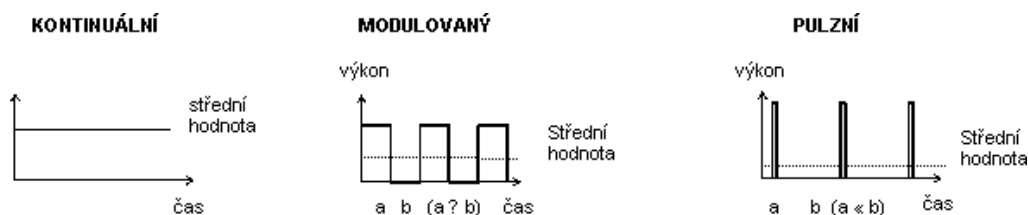
1. Operační lasery – HLLT High-reactive Level Laser Treatment (íreversibilní fotodestrukce: karbonizace, vaporizace, koagulace).
2. Terapeutické lasery – LLLT Low-reactive Level Laser Therapy (fotoaktivace).

Kategorizace II: V medicínské praxi se standardně používá dělení laserů na [37]:

1. Soft lasery – lasery biostimulační (nízkovýkonné/neinvazivní) s výkonem v řádech mW (nejčastěji do 50 mW). Účinky soft laserů jsou především biostimulační (syntéza kolagenu, novotvorba cév, podpora epitelizace), protizánětlivé a analgetické. Lasery s výkonem 100 W se v estetické chirurgii používají ve třech modech:
bodové odpaření: odstranění névů a bradavic,
plošné odpaření: vaporizace (např. laserový výbrus obličeje),
laserový skalpel: (např. dolní blefaroplastika – plastická operace dolních víček).
2. Power lasery – „tvrdé“ lasery s výkonem v řádech Wattů (používají se pro laserovou depilaci, korekci hyperpigmentací, odstranění cévních lézí, apod).

Terapeutické (soft) lasery využívají záření o nízké výkonové hustotě – dávají energii, která nezpůsobuje významnější termický ohřev tkáně, své místo proto nalezly převážně ve fyzioterapii [42].

Laserové záření v ozařované tkáni urychluje mikrocirkulaci (protizánětlivý, antiedematozní a trofický účinek s výrazným zvýšením buněčné látkové výměny), způsobuje změny hydrostatického intrakapilárního tlaku se zvýšením absorpce tekutiny v intersticiu (zmenšení otoků, regenerace tkání), zvyšuje práh dráždivosti nociceptorů (viz sekce 2.2) s analgetickým efektem, stimuluje aktivitu makrofágů, T lymfocytů, zvyšuje tvorbu ATP s urychlením redukujících procesů v dýchacím řetězci, stimuluje aktivitu fibroblastů, ovlivňuje zánětlivé mediátory (zejména prostaglandiny), zlepšuje funkci poškozených periferních



Obrázek 2.4. Režimy provozu laseru. Podle [36].

nervů, zmnožení kolagenních vláken, stimuluje syntézu bílkovin, zvyšuje aktivitu enzymů (succinyldehydrogenasy, laktátdehydrogenasy, kyselé fosfatázy a nespecifické esterázy), ovlivňuje elektrický potenciál na buněčné membráně a tím propustnost pro K^+ a Na^+ .

Terapeutické lasery můžeme rozdělit podle několika parametrů do kategorií, které se mohou lišit vlnovou délkou, výkonem, tvarem paprsku, způsobem napájení, možnostmi obsluhy přístroje, automatickým zaměřením ošetřované plochy a výpočtem aplikačních dávek, možnosti nastavení jednotlivých aplikačních parametrů ad.

Rozdělení podle výkonu:

- do 1 mW (třída 2),
- do 5 mW a výkonové hustoty 25 W/m^2 (třída 3A),
- do 500 mW (třída 3B).

Podle vlnové délky:

- 450–500 nm (modrá),
- 500–550 nm (zelená),
- 600–700 nm (červená),
- 700–950 nm (blízká infračervená).

Podle druhu provozu (viz obrázek 2.4):

- kontinuální provoz,
- pulsní provoz.

Podle tvaru paprsku:

- paralelní, kolimovaný,
- rozbíhavý bez ohniska,
- rozbíhavý s ohniskem.

Podle počtu paprsků:

- jednopaprskové,
- vícepaprskové.

Tabulka 2.1. Aplikální možnosti různých typů laserů. U polovodičového GaAIAs laseru se jedná o injekční laser (laserovou diodu).

Druh laseru	Vlnová délka [nm]	Výkon [mW]	Plocha paprsku [cm ²]	Doba aplikace [s]
Polovodičový GaAIAs	830	60	0.000019	10
Polovodičový GaAIAs	830	60	0.002	30
CO ₂	10600	3	0.000078	0.2
CO ₂	10600	20	78	30

Podle ovládání paprsku:

- manuální,
- strojní (řádkové rastrování),
- bodové (pulsní).

Podle užití:

- kapesní, ruční, tužkový,
- klinické (stacionární a přenosné),
- plošné, scanovací (rastrovací), řádkové, bodové.

Mechanismus aktivace měkkých tkání terapeutickými lasery byl popsán OSHIREM [43, 44]. Aplikací energetické dávky laseru v jednom bodě dochází k aktivaci tkáně v objemu, který v průběhu působení postupně narůstá. Takto aktivovaná tkáň tvarem připomíná jablko (odtud pak označení „Oshirovo jablko“) a její velikost závisí na výkonové hustotě laserového paprsku (působí po určitou dobu), vlnové délce a expozici (doba aplikace). Velikost aktivované tkáně závisí na energetické hustotě laseru, nejedná se však o terapeutickou energetickou dávku na jednotku ošetřované plochy.

V tabulce 2.1 jsou pro názornost uvedeny aplikální možnosti různých typů laserů.

2.5. Klinické a biomedicínské aplikace laseru

Použití laseru v lékařství umožňuje provádět nejen efektivnější zákroky, zkracovat dobu rekonvalescence, provádět miniinvazivní zákroky, ale také tam, kde nelze klasický terapeutický postup realizovat. V lékařství se používá hlavně díky svým tepelným účinkům na tkáň (koagulace, fixace tkáně, řezání tkáně).

Laserový paprsek byl prakticky ihned po svém objevu použit při fotokoagulaci cév sítnice oka (argonový laser). Od té doby se v oftalmologii hojně používá ke korekci zraku nebo k ošetření diabetické retinopatie, případně k určení indexu lomu oka. Oftalmologie však není jediným oborem, kde je laserový paprsek

hojně využíván. V dermatologii se používá např. na odstranění benigních novotvarů kůže a pro různé kosmetické zákroky (korekční dermatologie). Další uplatnění našel v chirurgických oborech (miniinvazivní ablace maligních/benigních nádorů), v gynekologii, onkologii, neurologii, stomatologii, ortopedii a mnoha dalších. Pro své fotochemické účinky se laser se používá k fotodynamické terapii malignit. Laserový paprsek prokazatelně zrychluje hojení ran a jizev.

Laserové paprsky tak patří k nenahraditelným terapeutickým, diagnostickým a analytickým postupům. Pro lékařské účely se používá mnoho typů laserů od pevnolátkových přes kapalinové až po plynové lasery.

Typická aplikace, která je umožněna vlastnostmi laserového záření, je dopplerometrie, tj. měření rychlosti pomocí Dopplerova jevu. Právě této aplikaci je věnována diplomová práce.

2.6. Klinické a biomedicínské aplikace dopplerometrie

Klinické a biomedicínské aplikace dopplerometrie jsou založeny zejména na duplexní sonografii, tj. ultrazvukové zobrazení orgánů kombinované s dopplerovským zobrazením rychlosti proudění krve v srdci, cévách, apod.

V klinické praxi se využívá především v ultrazvukové diagnostice v řadě klinických oborů. Zde uvedme několik konkrétních aplikací dopplerometrie, např. barevná a duplexní prenatální ultrazvuková dopplerometrie je významným prostředkem v diagnostice fetální anémie, stejně tak jako v běžné gynekologické a porodnické praxi (např. průtok krve pupeční šňůrou). V neurologii je významným diagnostickým prostředkem CMP⁵ (UZ karotid) a stejně tak v neurochirurgii jako transkraniální (skrz lebku) dopplerometrie. Mezi další lékařské obory využívající ultrazvukovou dopplerometrii k diagnostice patří zejména cévní chirurgie, kardiologie, kardiochirurgie a intenzivní medicína (např. měření tepenného tlaku krve, detekce arteriálních stenóz, TOS,⁶ měření směru proudění krve v koloaterálních cévních řečištích, sledování charakteru proudění krve – turbulentní, laminární, směr proudění krve ve vénách, monitorování v intenzivní péči – transezofageální dopplerometrie. Dále pak v diabetologii v diagnostice diabetické

⁵ CMP – cévní mozková příhoda (iktus), postižení určitého okrsku mozkové tkáně na podkladu poruchy cév, tj. jejich neprůchodnosti s následnou ischemií (mozkový infarkt) nebo poruchy celistvosti cévní stěny s následným krvácením do mozkové tkáně (mozkové krvácení).

⁶ TOS – syndrom hrudní apertury (Thoracic Outlet Syndrom) je nepříliš častý syndrom postihující především mladší pacienty, převážně ženy. Symptomatologie je způsobena kompresí cévního svazku ve fyziologických úžinách při výstupu z horní hrudní apertury.

makroangiopatie. Své uplatnění našla dopplerometrie také v plastické rekonstrukční chirurgii (detekce cévy využívající volný kožní lalok nebo detekce cévy k našití anastomóz).

Laserové dopplerometrii je věnována sekce 1.6 na straně 27 a sekce 4.2 na straně 55.

Část II

Odhad prognózy popálenin pomocí LDPI

Kapitola 3

Mikrovaskulární diagnostika LDPI

Tato kapitola sumarizuje nezbytné informace medicínského charakteru potřebné pro pochopení vlastního přínosu diplomové práce. Při jejím zpracovávání byly využity zkušenosti ze stáží na PC FNO, a dále konzultace s lékaři, knihy a další materiály [9–12, 45–49].

3.1. Klasifikace popálenin

V souvislosti s využitím metody PeriScan PIM 3 v diagnostice popálenin a s obsahem této praktické části zde uvedme ve stručnosti klasifikaci popálenin, etiologii a terapeutické postupy u jednotlivých stupňů popálenin.¹

Klasifikace popálenin nejčastěji dělíme podle stupně závažnosti popálenin, podle hloubky a rozsahu [45, 46] (viz obrázek 3.1 na straně 48).

3.1.1. Klasifikace popálenin podle stupně

I. stupeň: je zasažena pouze epidermis, na kůži je bolestivý erytém (zarudnutí), rána je suchá, teplá, bez puchýřů, změny na kůži jsou reverzibilní, ke zhojení dochází spontánně během několika dnů bez jizev.

II. stupeň: je poškozena epidermis a část dermis, dělí se na:

Ila.: zasahuje i povrchové vrstvy dermis, bolestivý erytém, bullý (puchýře), kapilární návrat je zachován, ke zhojení dochází za 10–12 dnů bez jizev, poškození epidermis je reverzibilní (*mid dermal burn*).

Ilb.: zasaženy jsou hlubší vrstvy dermis, stržené puchýře se sytě červenou spodinou, bolestivost ustává, chybí kapilární návrat, hojení epitelizací ze

¹ Obecné etiologie popálenin zahrnují: horká pára, tekutina, kontakt s horkým tělesem, ožeh plamenem, úraz elektrickým proudem, poleptání chemikáliemi, působení nízkých teplot (omrzliny), ionizující záření.



Obrázek 3.1. Ukázky popálenin různého stupně. *Vlevo nahoře:* I. stupeň. *Vpravo nahoře:* IIa. stupeň. *Vlevo uprostřed:* IIb. stupeň. *Vpravo uprostřed:* III. stupeň. *Dole:* IV. stupeň, postihující svalové struktury (následně byla provedena amputace ve stehně oboustranně). S laskavým svolením PC FNO.

zbytků vlasových folikulů a mazových žlázek, je zdlouhavé (2–4 týdny), někdy je nutná chirurgická intervence (*deep dermal burn*), vysoká pravděpodobnost vzniku hypertrofických jizev.

III. stupeň postižení kůže je v celé tloušťce (epidermis, dermis v celé tloušťce, zasahuje až do podkožního vaziva), bez bolesti, voskově bílá kůže, léčba je chirurgická – nekrektomie, autotransplantace kožním štěpem.

IV. stupeň: kromě kůže jsou zasaženy hlubší struktury (svaly, šlachy, kosti), tkáně jsou tmavé a necitlivé, může nastat až zuhelnatění.

3.1.2. Klasifikace popálenin podle hloubky

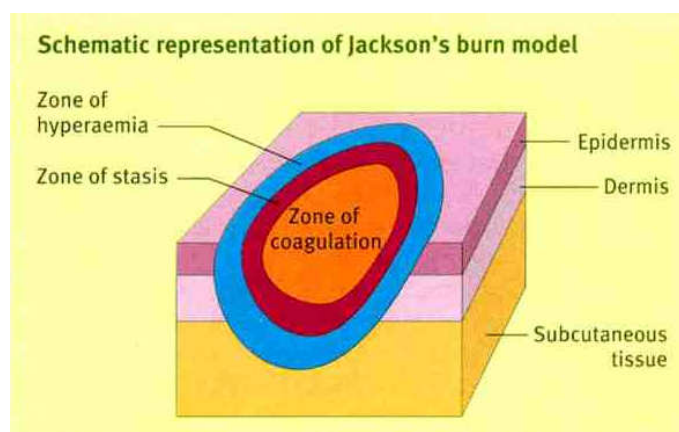
Povrchové popáleniny: I., IIa. – částečně poškozená kůže, spontánní hojení (*mid dermal burn*).

Hluboké popáleniny: IIb. (*deep dermal burn*), III. (*full thickness burn*), IV. – zasažení hlubokých vrstev dermis a ztráta kůže v celé tloušťce, poškození hlubších vrstev, nezbytná chirurgická léčba.

Jacksonův model popáleniny (viz obrázek 3.2) rozlišuje tři zóny:

Zóna koagulace: v centru se nachází zóna koagulace, která představuje zónu těžkého poškození způsobeného primárním poraněním. Tato tkáň se neobnoví a v průběhu času dojde k jejímu odloučení.

Zóna stázy: leží mezi zónou koagulace a erytému, zóna stázy zahrnuje méně poškozené tkáně, změny cirkulace se objevují centrálně, v povrchové vrstvě



Obrázek 3.2. Jacksonův model popáleniny. Podle <http://www.indiasurgeons.com/burns.htm>.

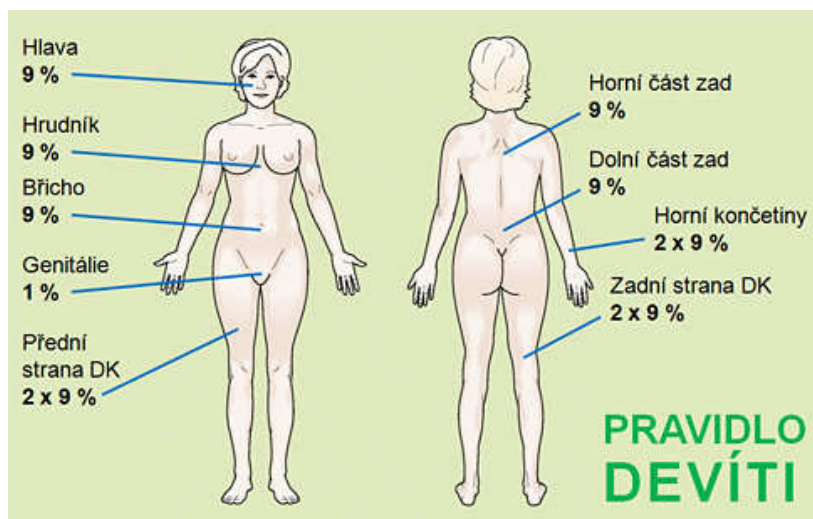
časné stázy nepřežívají žádné epitelové buňky a reepitelizace nastává migrací přežívajících buněk z hlubších vrstev. Hlubší vrstva opožděné stázy je poškozená se zachovalou dermis, zabrání-li se vyschnutí, nastává regenerace i z vlasových folikulů.

Zóna hyperémie: vnější zóna s intenzivní vazodilatací a zvýšenou perfuzí.

Okraje mezi zónami nejsou statické a jsou ovlivněny lokálními faktory. Snížená perfuze a rozsáhlý edém mají tendenci rozšířit zónu koagulace a tudíž oblast tkáňové nekrózy. Za příznivých podmínek zůstává centrální zóna statická a zóna stázy se zmenšuje a je nahrazována zónou hyperémie.

3.1.3. Klasifikace popálenin podle rozsahu

U dospělých se k orientačnímu posouzení rozsahu popálení používá „pravidlo devíti“ podle WALLACE (viz obrázek 3.3 a tabulka 3.1 na straně 51). Povrch těla je rozdělen na zóny představující 9 % tělesného povrchu (*Body Surface Area*) – plocha dlaně je 9 %. U dětí je vhodnější klasifikace podle LUNDA a BROWDERA (Lundův–Browderův diagram), povrch hlavy k povrchu dolních končetin se mění s věkem dítěte ve prospěch dolních končetin, plocha dlaně je v tomto případě 1 % (viz <http://www.epomed.cz/>). Hloubka i rozsah popálenin se mohou během desítek minut až hodin výrazně zhoršit.



Obrázek 3.3. Pravidlo devíti. Podle <http://www.epomed.cz/> – e-learning popáleninové medicíny.

Tabulka 3.1. Poměrné části obsahu povrchu částí těla.

	Dospělý	Dítě	Novorozenec
Hlava	9 %	15–19 %	21 %
Trup	36 %	32 %	32 %
HKK	2 × 9 %	2 × 9.5 %	2 × 9.5 %
DKK	2 × 18 %	2 × 15 %–2 × 17 %	2 × 14 %
Genitálie	1 %		

3.2. Současný stav využívání LDPI na PC FNO

V současné době je na PC FNO metoda LDPI využívána k monitoringu krevní perfuze korigovanými plexy.² Krevní perfuze úzce souvisí s hloubkou popálení a tedy dobou hojení popálenin. K měření se používá přístroj PeriScan PIM 3 (viz Kapitola 4.2). Výsledná 2D barevná mapa je zakódována do standardní škály 6 nebo 256 barev, pokrývajících rozsah 1000 arbitrárních perfuzních jednotek (*perfusion units, PU*).³ S rostoucí perfuzí postupuje barevná škála od tmavě modré barvy (odpovídá též zdravé kůži) přes modrou, zelenou, žlutou, oranžovou až po červenou. Velikost krevní perfuze vypovídá o úrovni metabolismu kůže, vyšší perfuze je podmíněna zvýšenými metabolickými nároky v raně během hojení.

Popáleniny II. stupně, které se spontánně zhojí do 3 týdnů, se vyznačují zvýšenou perfuzí v prvních 9 poúrazových dnech, která navíc během této doby narůstá. Popáleniny III. stupně, které vyžadují operační léčbu, vykazují nízkou perfuzi během sledovaného období, tedy do 9. poúrazového dne (*posttraumatický den, PTD*), což vyplývá z destrukce cévních plexů ve škáře a neschopnosti pokrýt metabolické nároky rány. Právě na základě hodnoty krevní perfuze lze pacienty zařadit do skupiny konzervativně léčených (stupně IIa., IIb., zhojených do 3 týdnů) a do skupiny pacientů s nutností chirurgické léčby (III. stupeň – bez schopnosti spontánního zhojení).

K největšímu počtu chyb dochází při diferenciální diagnostice mezi popálením IIb. stupně (*deep dermal burn*) a III. stupně (*full thickness burn*) během klinického posouzení. Proto jsou tyto případy předmětem současného výzkumu na PC FNO. Důraz je kladen rovněž na vývoj perfuze v čase od prvního do devá-

² Korigované – týkající se korig (škáry), což je vazivová vrstva kůže ležící pod pokožkou, obsahuje zejména cévy, nervy, žlázy a vlasové míšky. Plexus – latinsky pletěň.

³ Nemusí být vždy zvolena hodnota 1000 PU; na PC FNO však ve svých dosavadních pracích uvádějí právě tuto hodnotu perfuze.

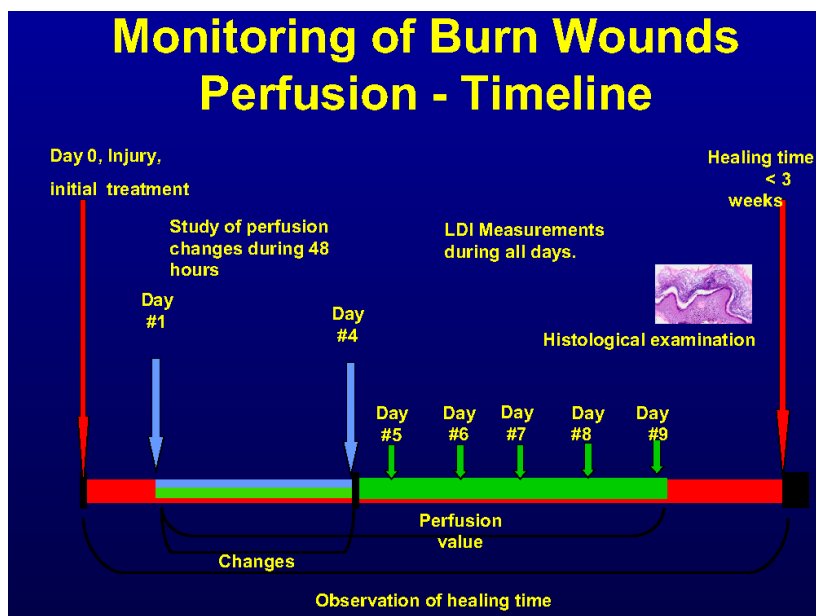
tého poúrazového dne. Schopnost zvýšení perfuze v čase je jednou z důležitých vlastností rány se schopností spontánního zhojení.

U pacientů podstupujících laserdopplerometrická měření je sledována doba hojení (do 14 dnů, 21 dnů, nad 21 dnů). V případě chirurgické léčby je vzorek popálené tkáně vyšetřen histologicky, za účelem ověření hloubky poškození. Pacienti jsou následně rozděleni z klinických důvodů do tří skupin:

1. zhojení do 14 dnů (IIa. stupeň),
2. zhojení do 21 dnů (IIb. stupeň),
3. zhojení nad 21 dnů a operování s histologickým nálezem popálení III. stupně.

Sledovány jsou rozdíly hodnot perfuze u těchto skupin. Kritéria pro LDI diagnostiku jsou vymezena především popálením s klinicky nejasnou hloubkou popálení, IIb.–III. stupně, nepřítomností infekce v ráně, spoluprací pacienta a podepsaným informovaným souhlasem.

Dosavadní zjištěné výsledky hodnot perfuze popálenin, nutných k predikci spontánního zhojení raných ploch do 3 týdnů, jsou 147 PU 3.–5. poúrazový den, 191 PU 6.–7. PTD, 273 PU 8. a 9. PTD. Prvních 48 hodin po úrazu, kdy převládá edém v ráně, komprimující kapiláry ve škáře, jsou okamžité hodnoty krevní perfuze u popálených ran nespecifické. Dynamika zhojení u konzervativně léčených pacientů (2. skupina), zhojených do 3 týdnů, vykazuje setrvalý vzestup



Obrázek 3.4. Monitorování krevní perfuze popálenin na PC FNO. Podle [10].

perfuze od 2. do 9. dne. Konzervativně léčení pacienti s délkou hojení více než 21 dnů, nebo operovaní s histologickým nálezem popálení III. stupně (3. skupina), vykazovali nulový nebo minimální vzestup perfuze, hodnoty perfuze nepřesáhly 150 PU během sledovaných 9 poúrazových dnů [11, 12].

Na závěr lze konstatovat, že tato metoda pomáhá upřesnit diagnózu hloubky popálenin a umožňuje indikovat včasnou a správnou léčbu popálenin. Ze zkušenosti na PC FNO se ukazuje, že optimální je provést první měření co nejdříve po úrazu, do 48 h (ne však v den úrazu), další pak po 48 hodinách, až do určení terapeutického postupu. Operační léčba je indikována při detekci perfuze nižší než 150 PU do 5. PTD, bez známek vývoje prokrvení při opakovaných měření (viz obrázek 3.4 na straně 52).

3.3. Motivace pro výzkum aplikace LDPI v oblasti popálenin

Motivace pro výzkum aplikace LDPI v oblasti popálenin je co nejčasnější stanovení správné diagnózy hloubky popálenin. V prvních pěti posttraumatických dnech dochází až ve 40 % případů k nesprávnému stanovení klinické diagnózy popálenin. Tato diagnostická nepřesnost má za následek nesprávnou volbu terapie. K časné operační léčbě (tzv. *early necrectomy*), následované přenosem kožního štěpu, by se mělo přistoupit již 5. poúrazový den, a to u ran s předpokládanou dobou hojení delší než 3 týdny. V opačném případě narůstá počet jizevnatých komplikací. Včasná diagnostika popálenin je jedním z hlavních motivací pro výzkum aplikace LDPI.

Cílem je optimalizovat techniku měření a následné vyhodnocení tak, aby byla stanovena co nejpřesnější kriteria pro indikaci chirurgické nebo konzervativní léčby, s využitím jak okamžité hodnoty perfuze, tak posouzení její dynamiky. Dynamika perfuze přispívá ke správnému určení hloubky popálenin. Zpracování perfuzních skenů metodou digitální subtrakce umožní přesnější analýzu výsledků měření a výrazné zlepšení topografické přesnosti při plánování operační léčby.

Největším přínos LDI spočívá v eliminaci tzv. zbytečné chirurgie (*unnecessary surgery*), omezení rozsahu chirurgických výkonů u rozsáhlých popálenin, včasné indikaci operační léčby, snížení rizika vzniku hypertrofických jizev, počtu následných rekonstrukčních operací a zkrácení doby hospitalizace. Příznivé ekonomické dopady jsou rovněž nezanedbatelné.

Kapitola 4

Projekt PIPPA

Tato kapitola představuje vlastní přínos diplomové práce. Při jejím zpracovávání byly použity zejména knihy, manuály a další materiály [14, 29, 31, 50–63].

4.1. Cíl projektu

Jak bylo již řečeno v sekci 3.3, stěžejním přínosem LDI je eliminace zbytečné chirurgie, případně omezení rozsahu chirurgických výkonů u rozsáhlých popálenin, včasná indikace operační léčby, snížení rizika vzniku hypertrofických jizev, počtu následných rekonstrukčních operací a zkrácení doby hospitalizace.

Cílem projektu PIPPA¹ je poskytnout lékařům nástroj pro vyhodnocení topografických perfuzních map jak okamžitých hodnot perfuze, tak perfuzní dynamiky. Obě složky umožní přesnější analýzu výsledků měření a výrazné zlepšení topografické přesnosti při plánování operační léčby. Ačkoli softwarové nástroje pro vytváření překryvů fotografií postižených oblastí perfuzními mapami (overlays) byly v roce 2011 vytvořeny firmou Perimed AB [31], překryvy mapami perfuzních diferencí představují nový prvek, který by na základě faktů prezentovaných v sekci 3.3 měl tvořit klinicky použitelný výstup.

4.2. Popis přístroje PeriScan PIM 3

PeriScan PIM 3 firmy Perimed AB je přístroj pro mikrocirkulační studie v klinických podmínkách i ve výzkumných laboratořích. Lze jej použít pro monitorování mikrocirkulační aktivity zdravé i poškozené kůže.

¹ Akronym PIPPA (*Perfusion Image Progression and Prognosis Assessment* – odhad progresu perfuzního obrazu a prognózy [popáleniny]) označuje jak celý projekt realizovaný ve spolupráci s PC FNO, tak samotný nástroj – počítačový program sloužící pro posuzování perfuze a její dynamiky.

PeriScan PIM 3 system je laserové dopplerovské zařízení pro zobrazování krevní perfuze. Pomocí skenování tkáně nízkointenzitním laserovým svazkem vytváří barevně kódované topografické mapy krevní perfuze v mikrokapilárách kůže. Tato plošná měření jsou méně dynamická než jednobodové dopplerovské monitorování (výstup je podobný jako u pletysmografie). Výhodou však je, že mikrocirkulaci lze studovat na větší ploše obsahující až 256×256 diskrétních měřicích bodů.² Měření jsou neinvazivní a nedochází při něm k fyzickému kontaktu.

PeriScan PIM 3 má mnoho různých mikrovaskulárních aplikací jak u lidí, tak u zvířat. Obvyklé použití zahrnuje posouzení popálenin, nehojících se ran, dále plastickou chirurgii a vývoj kosmetických přípravků. Tato technika se běžně používá na zvířatech také pro výzkum iktu a pro zobrazování orgánové krevní perfuze během chirurgických operací. PeriScan PIM 3 je kompaktní a portabilní přístroj, který lze umístit na jakýkoliv stabilní povrch ve vyšetřovací místnosti nebo na mobilní vozík. Skenovací hlava obsahuje kromě vlastního laseru a detektoru také barevnou kameru snímající fotografie měřeného objektu pro účely dokumentace a pro usnadnění identifikace oblastí zájmu³ (viz obrázek 4.1 na straně 4.1).

4.2.1. Laserová dopplerometrie

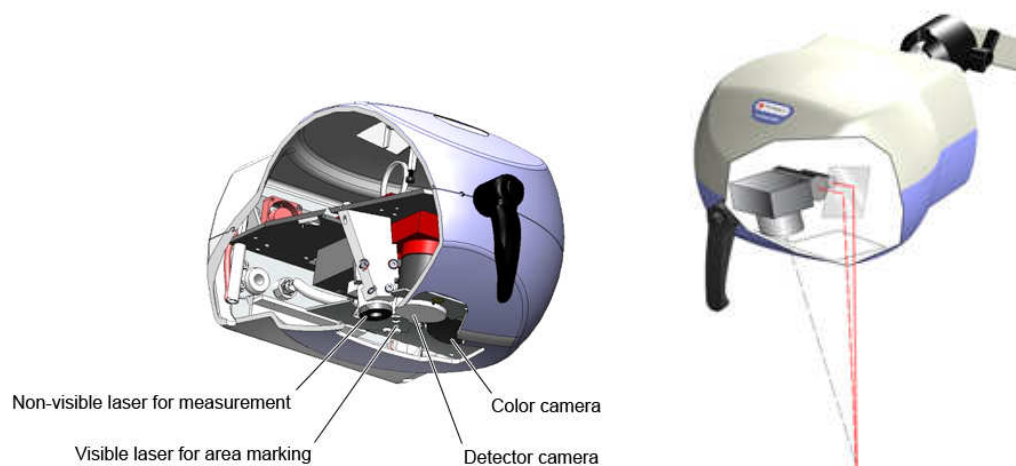
PeriScan PIM 3 využívá laserového svazku vytvářeného nízkointenzitním pevnolátkovým laserem s maximálním výkonem 1 mW, vlnovou délkou 650 nm až 690 nm a průměrem svazku 1 mm, který sekvenčně po krocích skenuje povrch kůže. Pro zamezení pohybovým artefaktům se laserový svazek před každým měřením na 15 ms zastaví, takže během vlastního měření se svazek nepohybuje [14].

Když laserový svazek proniká tkání, je rozptylován a částečně absorbován. Část rozptýleného světla se vrací přes povrch tkáně zpět do fotodetektoru zabudovaného v přístroji. Signál získaný fotodetektorem je pak zpracováván tak, aby se z něj získala informace o mikrovaskulárním proudění krve. Podle Dopplerova principu dojde u světla rozptýleného zpět pohybujícími se krevními elementy (typicky erytrocyty) ke změně frekvence (vlnové délky), zatímco u světla rozptýleného statickými strukturami nikoliv.

Superpozice odražených svazků vyvolává ve fotodetektoru modulaci proudu podle obsahu dopplerovsky posunutých komponent. Větší Dopplerův posuv vy-

² Obvyklé rozlišení používané k výzkumu popálenin na PC FNO je okolo 50×70 pixelů.

³ ROI – Region of Interest.



Obrázek 4.1. *Nahoře:* Pohled na PeriScan PIM 3 s kloubovým ramenem. *Dole:* Průřezy skenovací hlavou PeriScan PIM 3 ukazuje laser, digitální kameru a fotodetektor, který měří nazpět rozptýlené světlo, a rozptylací zrcátko, které pohybuje svazkem po měřicích bodech. Podle [14, 29].

tvářený „rychle“ se pohybujícími se krevními elementy dává vzniknout vyšším frekvencím proudu detektoru, zatímco amplituda fluktuující složky proudu závisí na počtu pohybujících se krevních elementů. Perfuze je tedy úměrná počtu a rychlosti pohybu krevních elementů. Prostorově zprůměrovaná hodnota (přes oblast srovnatelnou s průřezem laserového svazku) nezávisí na směru pohybu (viz obrázek 1.13 na straně 30 a obrázek 4.2 na straně 59 vlevo).

Šířka pásma procesoru pro zpracování Dopplerovým jevem modulovaného proudu fotodetektoru je 50 Hz až $\nu_{\max} = 15 \text{ kHz}$ [14]. Ze vztahu pro Dopplerův posun (1.24) dostaneme pro maximální velikost detekovatelné rychlosti

$$|\nu_{\max}| = \frac{1}{2} \lambda_0 \Delta \nu_{\max}, \quad (4.1)$$

kde λ_0 je vlnová délka použitého laserového světla, což pro PeriScan PIM 3 dává

$$|\nu_{\max}| \approx 5 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}. \quad (4.2)$$

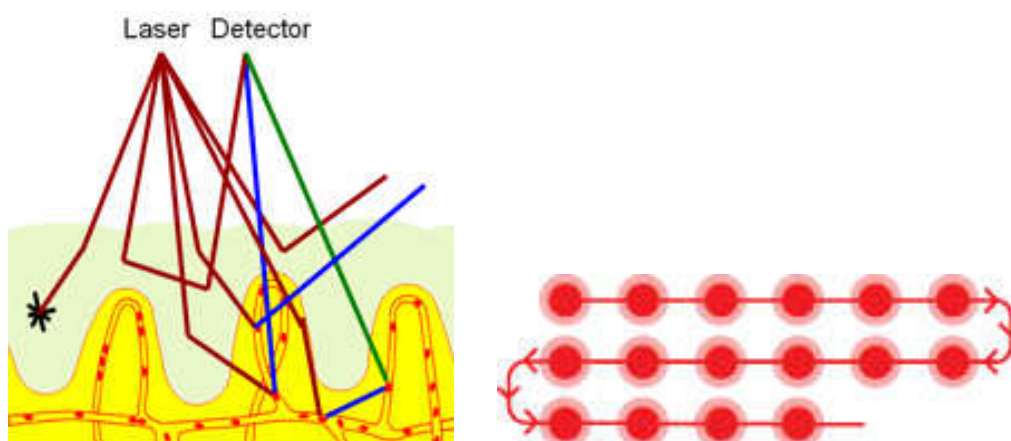
4.2.2. Skenování

Ačkoliv se pohyb laserového svazku při skenování jeví jako spojitý, každé měření je ve skutečnosti vytvořeno z množství diskrétních měřicích bodů. V každém bodě se laserový svazek na cca 15 ms milisekund zastaví, aby změřil perfuzi v tkáni, a teprve poté se přesune do dalšího bodu. Maximální počet měřicích bodů je 256×256 , tj. v jednom obraze je naskenováno přes 65 000 bodů tkáně. Obecně je výhodné průměrovat hodnotu perfuze přes mnoho bodů, protože hodnota perfuze v každém individuálním bodě je zatížena šumem a prostorovými variacemi v tkáni. Stopa laserového svazku při skenování je znázorněna na obrázku 4.2 na straně 59 vpravo [14]. Orientační doba skenování v závislosti na počtu bodů skenu je uvedena v Tabulce 4.1.

Prostorové rozlišení je definováno jako nejmenší vzdálenost objektů, které je možné rozlišit. Rozlišení je tedy určeno jednak průměrem laserového svazku (viz

Tabulka 4.1. Orientační doby skenování PeriScan PIM 3. Podle [14].

Rozměry skenu [pixely]	Doba skenování
10 × 10	4 s
20 × 20	15 s
50 × 50	1 min 30 s
100 × 100	6 min 10 s



Obrázek 4.2. Vlevo: Princip laserového doplerovského perfuzního zobrazování (LDPI). Vpravo: Stopa laserového svazku při skenování pomocí PeriScan PIM 3. Vzdálenost mezi sousedními body je označována jako skenovací krok (step length). Podle [14, 29].



Obrázek 4.3. Ukázka zpracování v softwaru LDPIwin 3.1.3. Vlevo nahoře: mapa perfuze. Vpravo nahoře: intenzitní mapa. Dole: Fotografie skenované lokality. Podle [14].

Tabulka 4.2. Orientační rozměry skenů PeriScan PIM 3 pro různé režimy rozlišení při vzdálenosti skenovací hlavy od skenované plochy 25 cm a při 50 × 50 skenovaných bodech. Podle [14].

Režim rozlišení	Skenovaná oblast [cm × cm]	Skenovací krok [mm]
Low	14.8 × 16.0	3
Medium	9.7 × 10.5	2
High	4.8 × 5.2	1
Very High	2.4 × 2.6	0.5

sekce 1.3 na straně 18), který u PeriScan PIM 3 činí 1 mm, a použitým skenovacím krokem. Největší skenovací efektivita je dosaženo tehdy, je-li skenovací krok roven průměru laserového svazku. Menší skenovací krok sice zlepší vizuální prezentaci skenu, ale nepřidává žádnou fyziologicky relevantní informaci. Rozlišení lze nastavit softwarově na čtyři módy: Low, Medium, High a Very High. Většina skenů z PC FNO je v režimu Low, několik v Medium; High a Very High nepoužívá žádný. V Tabulce 4.2 jsou uvedeny orientační rozměry skenu pro jednotlivé režimy rozlišení.

Kromě perfuzního skenu poskytuje PeriScan PIM 3 také tzv. intenzitní sken, který je konstruován na základě intenzity laserového svazku rozptýleného zpět do fotodetektoru bez ohledu na Dopplerův posun. Pixelové rozměry intenzitního skenu jsou stejné jako u perfuzního skenu. Intenzitní sken je užitečný pro odlišení skenovaného objektu od okolní. V klinické praxi jsou pacienti umisťováni na sterilní podložky z materiálu zelenomodré barvy, která dobře absorbuje červené světlo laseru, a tím vytváří intenzitní kontrast mezi podložkou a skenovaným objektem. V digitálním zpracování se intenzitní sken hodí hlavně pro vytváření masky, s jejíž pomocí lze definovat průhlednost okrajových oblastí perfuzních map.

Data jsou analyzována pomocí jednoúčelového softwaru LDPlwin 3.1.3 (viz obrázek 4.3 na straně 59 a obrázky v Dodatku A na straně 95). Tento software je určen jak pro ovládání PeriScan PIM 3 (v tom případě vyžaduje instalaci příslušných ovladačů dodávaných výrobcem), tak pro zpracování získaných skenů – v tom případě jej lze nainstalovat na počítač bez přístupu k PeriScan PIM 3.

V perfuzním skenu, intenzitním obrázku nebo barevné fotografii lze specifikovat oblasti zájmu (ROI); krevní perfuze v takových oblastech je pak automaticky statisticky kvantifikována. Perfuzní mapy i ostatní uvedené výstupy lze exportovat do Microsoft Word, Excelu, do textového souboru a do obrazových formátů. Zejména poslední dvě možnosti byly využity při předzpracování skenů pro účely této práce (viz sekce 4.3 na straně 61). Přesnost měření krevní perfuze

udávaná výrobcem je $\pm 10\%$ [14].

PeriScan PIM 3 má vestavěnou kompenzaci signálového šumu ze světla napájených ze standardní rozvodné sítě o frekvenci 50/60 Hz. Jiné fluktuace ambientního světla během skenování však mohou ovlivňovat měření, takže je žádoucí zajistit stabilní světelné podmínky. Ačkoli je PeriScan PIM 3 je navržen pro práci při běžném denním světle, příliš vysoká intenzita (např. přímého slunečního světla přes okno) může ovlivnit naměřené hodnoty perfuze. Proto má přístroj vestavěnou testovací funkci pro zjištění, zda hladina ambientního světla leží pod přípustnou mezí [14].

Podrobné informace o přístroji PeriScan PIM 3 lze nalézt v rozšířeném manuálu [14].

4.3. Organizace a předzpracování LDPI skenů

LDPI záznamy pacientů s různě závažnými popáleninami a s různou odezvou na léčbu jsou na Popáleninovém centru FNO Ostrava archivovány od ledna 2010. Pro účely vývoje projektu PIPPA bylo poskytnuto celkem 105 anonymizovaných případů, z nichž bylo vybráno 51 případů splňujících následující kritéria:⁴

- Existence alespoň dvou skenů téže části těla v časovém odstupu od několika hodin až několika dnů.
- Možnost slícování – zde může být překážkou diferenciální rotace nebo změna pozice částí těla vůči sobě, např. roztažené prsty vs. prsty u sebe.
- Dostatečná kvalita skenů a fotografií.

Vybraných 51 případů bylo uloženo do adresářů

PCFNO/Case001

PCFNO/Case002

...

PCFNO/Case<NNN>

...

PCFNO/Case051

- Každý z uvedených adresářů obsahuje alespoň jednu *dávku skenů* (*scan batch*) – časovou posloupnost skenů téže části těla odlišenou zkratkovým názvem této části (případně vyjadřujícím pohled na ně, je-li to nezbytné), např. BerecLevy, RukaPravaDorsal.

⁴ Ne všechny tyto předem vybrané případy se ukázaly vhodnými kandidáty na subtrakční analýzu popisovanou v této práci.

- Každá dávka skenů sestává alespoň ze dvou *skenů* odlišených v názvu pomocí posttraumatických dnů (PTD), např. BerecLevyPTD01, BerecLevyPTD02, ..., BerecLevyPTD<DD>. Všechny skeny jedné dávky musejí mít stejné rozměry. Ze skenů jedné dávky lze tvořit *páry skenů*, které se mezi sebou mohou porovnávat pro zjišťování dynamiky topografie perfuze. Pozdější sken páru budeme nazývat *referenční sken* (*reference*), dřívější pak *subtrahovaný sken* (*sensed*).⁵
- Každý sken je tvořen jednak LDI souborem s příponou *.ldi, jenž obsahuje v binárním proprietárním formátu perfuzní a intenzitní sken a další hlavičkové údaje jako vzdálenost skenovací hlavice od vyšetřovaného místa apod.,⁶ jednak ze souboru *-0.jpg obsahujícím barevnou fotografii skenovaného místa v pevné velikosti 1280 × 1024 pixelů.

4.3.1. Export z LDI souborů

Znalost specifikace binárního proprietárního LDI souboru by umožnila napsání vstupní rutiny, jež by všechna potřebná data načítala přímo z LDI souboru a s ním asociované fotografie. Firma Perimed AB bohužel nevyhověla žádosti o uvolnění jeho specifikace pro účely tohoto projektu. Bylo proto třeba zvolit alternativní způsob využívající export pomocí softwaru LDPIwin 3.1.3 dodávaného s přístrojem PeriScan PIM 3. Tato procedura je sice funkční, ale poněkud zdoluhavá, proto je její popis přesunut do Dodatku A. Po exportu je s každým skenem spojeno následujících šest souborů:

CastTelaPTD<DD>.ldi	originální LDI binární soubor
CastTelaPTD<DD>-0.jpg	originální fotografie
CastTelaPTD<DD>.head	exportovaný hlavičkový textový soubor
CastTelaPTD<DD>.perf	exportovaný textový soubor s hodnotami perfuze
CastTelaPTD<DD>.inty	exportovaný textový soubor s hodnotami intenzity
CastTelaPTD<DD>.png	exportovaná zmenšenina fotografie (rozměr do 640 × 480 pixelů) opatřená záměrným křížem (viz obrázek 4.4 na straně 65)

Formát hlavičkových souborů *.head je následující:

⁵ Zatímco referenční sken bude při porovnávání nezměněný, subtrahovaný sken bude podléhat transformacím, jejich účelem je slícování obou skenů.

⁶ LDI soubory mohou obsahovat i více než jeden sken, jsou-li zaznamenány v režimu Repeated nebo Sequential, tato možnost ale není využita. Každý sken je uložen v samostatném souboru.

ImageSize[pixel]	33 74	šířka výška skenu [pixels]
Resolution	Low	rozlišení skenu: Low, Medium, High
Distance[cm]	17.9	vzdálenost hlavice [cm]
StepLength[mm]	2.4	délka skenovacího kroku [mm]
Area[cm]	7.7 19.8	šířka výška skenu [cm]
Date	2011/03/10	datum skenu YYYY/MM/DD
Time	08:25:48	čas skenu hh:mm:ss
RelativeTime	00:00:00	jen pro Repeated/Sequential

Textové soubory *.perf (*.inty) obsahují hodnoty perfuze (intenzity) oddělené bílými znaky. Neobsahují žádnou hlavičku ani žádné znaky vymezující délku řádku (šířku skenu), k jejich správné interpretaci je zapotřebí první číslo v poli ImageSize[pixel]. Druhé číslo v tomto poli slouží pro kontrolu; součin šířky a výšky musí být roven celkovému počtu hodnot v každém ze souborů *.perf a *.inty.

4.4. Principy zpracování LDPI skenů a metoda DSPTA

Pro naplnění cíle stanoveného v sekci 4.1 byla rozpracována metoda s pracovním názvem DSPTA (*Digital Subtraction Perfusion Topography Analysis – digitální subtrakční analýza topografie perfuze*), jež je součástí výše zmiňovaného projektu a programu PIPPA.

Oproti standardnímu softwaru LDPIwin 3.1.3, jenž je součástí dodávky přístroje PeriScan PIM 3, umožňuje PIPPA následující:

1. Vytváření překryvů fotografií postižených oblastí perfuzními mapami (overlays) tak, aby lékař mohl pohledem posoudit plošnou distribuci perfuze na poraněné oblasti kůže. Grafické a barevné znázornění je podle našeho názoru v klinické praxi užitečnější než výčty čísel.
2. Překryvy musejí využívat vhodně zvolených barevných škál a alternativně dvou druhů map – tzv. denzitních map a vrstevnicových map, z nichž každá má z hlediska vizuálního posouzení své přednosti.
3. Kromě překryvů perfuzními mapami musí být k dispozici překryvy mapami perfuzních diferencí získaných odečtením dvou map získaných v různém čase (v různých PTD). To je podstatou metody DSPTA.⁷

⁷ Odtud *subtrakční analýza* v akronymu DSPTA.

4. Možnost vztažení vypočtených perfuzních diferencí na jednotku času (typicky na 24 hodin). Tím vzniká vlastně „odhad první derivace“ celého perfuzního skenu. Informace z map perfuzních hodnot a perfuzních diferencí by mělo lékařů pomoci určit správnou diagnózu a správně se rozhodnout v raných fázích popáleninového poranění v intencích prezentovaných v sekci 3.3.
5. Možnost rychlé reakce na připomínky lékařů a jejich zapracování do softwaru.
6. Možnost vybavení pracoviště PC FNO softwarem a jeho bezproblémovou údržbou.

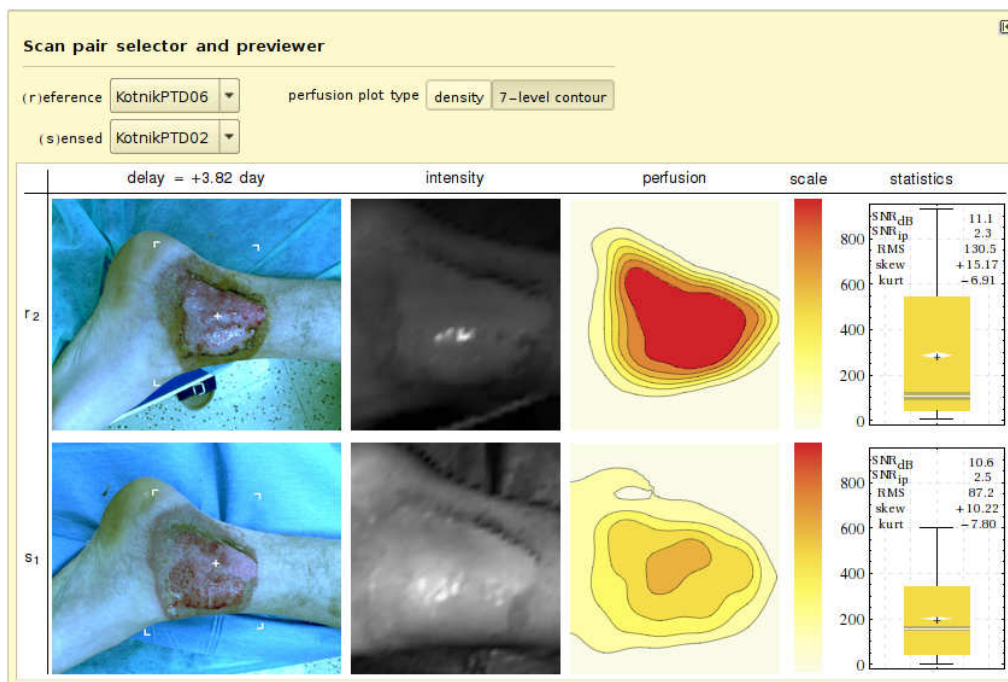
Zásadní prerekvizitou pro realizaci DSPTA, tedy naplnění bodů 3 a 4, je pokud možno dokonalé slícování (registrace) dvou skenů. V přípravných fázích projektu PIPPA jsme uvažovali o řešení tohoto úkolu pomocí standardních metod automatizované registrace obrazu, jak jsou popsány například v monografii [51] a jak se rutinně používají v medicíně např. při fúzích obrazů MRI/SPECT. Jelikož skenovaná oblast je pokaždé, i při nejlepší snaze lékařů, zaměřena na trochu jiné místo, je třeba registraci provádět pomocí fotografií postižených oblastí.⁸ Zde vyvstává problém. Pokud by každá fotografie byla sejmuta z trochu jiné vzdálenosti, s trochu pootočenou snímací hlavou, případně pokud by byly vůči sobě posunuty, nebyl by principiální problém registrace dosáhnout standardními postupy. Fotografie se však liší celkovou scénérií nejen v místech mimo pacientovu kůži (záhyby na podložce, okolí vyšetřovny), ale hlavně se mění, a dosti podstatně, vzhled, barva, tvar a textura samotného poranění. To činí automatizovanou registraci přinejmenším velmi nespolehlivou. Ukázka fotografií popáleninového poranění v různých PTD je na obrázku 4.4 na straně 65 a na obrázcích A.4 a A.5 na stranách 99 a 100. Mnoho dalších obrázků je v elektronické podobě na nosiči CD-ROM, jenž tvoří Přílohu č. 5 (viz strana 89).

V počátečních fázích projektu jsme zvažovali preprocessing fotografií pomocí grafického editoru, po němž by následovala zmíněná automatická registrace. Tato možnost byla posléze zavržena ve prospěch jiné metody, která bude popsána níže. Ta sice rovněž vyžaduje lidskou interakci, avšak ta se odehrává přímo během lícování obrazů, takže při ní může lékař využívat svých zkušeností analogickým způsobem jako rentgenolog hledající objekty na rentgenovém snímku. Postup, jenž byl nakonec zvolen, je následující:

⁸ Pro zlepšení reprodukovatelnosti umístění obdélníkové skenované oblasti byla zvažována možnost markerů přímo na těle pacienta. Tato eventualita však byla – vzhledem k charakteru popáleninových poranění – zamítnuta ještě ve stadiu úvah.



Obrázek 4.4. Ukázka fotografie reálného případu popáleninového poranění. Na fotografii je vidět záměrný kříž a ořezové značky. *Nahoře:* Druhý PTD. *Dole:* Šestý PTD. Publikováno s laskavým svolením PC FNO.



Obrázek 4.5. Ukázka interaktivního panelu pro výběr páru skenů v programu PIPPA. Zleva doprava jsou zobrazeny fotografie, intenzitní skeny, perfuzní skeny (zde je zapnuta volba vrstevnicového grafu), barevná škála s orientačními hodnotami perfuze a základní statistiky. Intenzitní skeny jsou normovány každý individuálně na svou maximální hodnotu, na rozdíl od perfuzních skenů, které jsou všechny (v načtené dávce) normovány na společnou maximální hodnotu perfuze (což je v tomto případě dobře vidět). Vzhledem k rychlému vývoji nemusí obrázek odpovídat přesně prezentaci na obhájobě. Vývoj programu PIPPA probíhal na několika počítačích s různými OS (Windows, Linux). Vzhled interaktivních panelů se proto může lišit v závislosti na počítači, na kterém byl konkrétní snímek obrazovky pořízen.

1. Načtení skenové dávky (viz sekce 4.3), tj. všech tří komponent (perfuzního skenu, intenzitního skenu a fotografie), a hlavičkových údajů, ze souborů předzpracovaných v programu LDPlwin 3.1.3.⁹
2. Perfuzní mapy obsahují šum. Odhad jeho obsahu je kvantifikován v interaktivním panelu pro výběr páru skenů z dávky (viz obrázek 4.5) pomocí odstupu signál-šum [64]

$$\text{SNR}_{\text{dB}} = 10 \log_{10} \frac{\mathcal{E}_{\text{signál}}}{\mathcal{E}_{\text{šum}}}, \quad (4.3)$$

⁹ Opět připomínáme, že předzpracování je nutné, protože fa Perimed AB neuvolnila specifikaci souborového formátu *.ldi.

kde $\mathcal{E}_{\text{signál}}$ ($\mathcal{E}_{\text{šum}}$) je energie signálu (šumu), pomocí poměru signál-šum používaného v oblasti zpracování obrazu

$$\text{SNR}_{\text{ip}} = \frac{\mu_{\text{signál}}}{\sigma_{\text{šum}}}, \quad (4.4)$$

kde $\mu_{\text{signál}}$ je střední hodnota signálu a $\sigma_{\text{šum}}$ je směrodatná odchylka šumu, a pomocí střední kvadratické hodnoty šumu

$$\text{RMS} = \sqrt{\frac{\mathcal{E}_{\text{šum}}}{n_x n_y}}, \quad (4.5)$$

kde n_x, n_y jsou původní rozměry skenu v pixelech. Pro odstranění šumu je použita kombinace mediánového filtru a Gaussova filtru se směrodatnou odchylkou rovnou polovině poloměru gaussovske kruhové konvoluční matice. Konkrétní parametry jsou dosud předmětem ladění a jejich aktuální hodnoty lze najít ve výpisu programu v Příloze 1. Mediánový filtr je zařazen proto, že původní perfuzní sken obsahuje výstřelový šum – tyto perfuzní artefakty jsou podle [12] způsobeny zbytky tělních tekutin a léčiv na skenovaném povrchu.

3. Interaktivní panel pro výběr páru skenů z dávky (viz obrázek 4.5 na straně 66). Na panelu je pro každý sken páru v jednotném měřítku zobrazena fotografie, nefiltrovaný intenzitní a filtrovaný perfuzní sken a statistika v podobě box-and-whisker grafu a doplňkových numerických statistických údajů – šikmosti (*skewness*) a špičatosti (*kurtosis*).¹⁰ Obsahuje-li dávka více než dva skeny, implicitně se jako referenční sken bere nejpozdější a jako subtrahovaný nejstarší sken. Interaktivní panel zahrnuje převzorkování intenzitního i perfuzního skenu na potřebnou velikost včetně interpolace (zde používáme vertikální velikost 192 pixelů).¹¹ Z této interakce se uloží pořadová čísla obou vybraných skenů a datum a čas snímání pro pozdější výpočet časového rozdílu.
4. Převzorkování intenzitního a perfuzního skenu tak, aby rozlišením odpovídaly fotografii. Údaje pro toto převzorkování se berou jednak z hlavičkových souborů *.head, jednak z kalibračního souboru (blíže o tom viz subsekcce 4.4.2). Postup je následující. Nechť fotografie má šířku v pixelech N_x a reálnou šířku v milimetrech L_x , a nechť sken má nativní šířku v pixelech

¹⁰ Oba uvedené údaje jsou vztaženy na jejich vlastní standardní chybu, takže jejich hodnotu v řádu jednotek a větší lze považovat za statisticky signifikantní [62, 65].

¹¹ Samotné skeny mají malé rozlišení, typicky okolo 70×50 pixelů.

n_x a reálnou šířku v milimetrech ℓ_x . Pak vzorkovací perioda (horizontální rozteč pixelů) fotografie a skenu jsou po řadě

$$D_x = \frac{L_x}{N_x - 1}, \quad d_x = \frac{\ell_x}{n_x - 1}. \quad (4.6)$$

Pro správné vnoření skenu do fotografie je třeba převzorkovat jej na počet pixelů n'_x tak, aby jeho nová vzorkovací perioda

$$d'_x = \frac{\ell_x}{n'_x - 1} \quad (4.7)$$

byla stejná jako vzorkovací perioda fotografie,

$$d'_x = D_x. \quad (4.8)$$

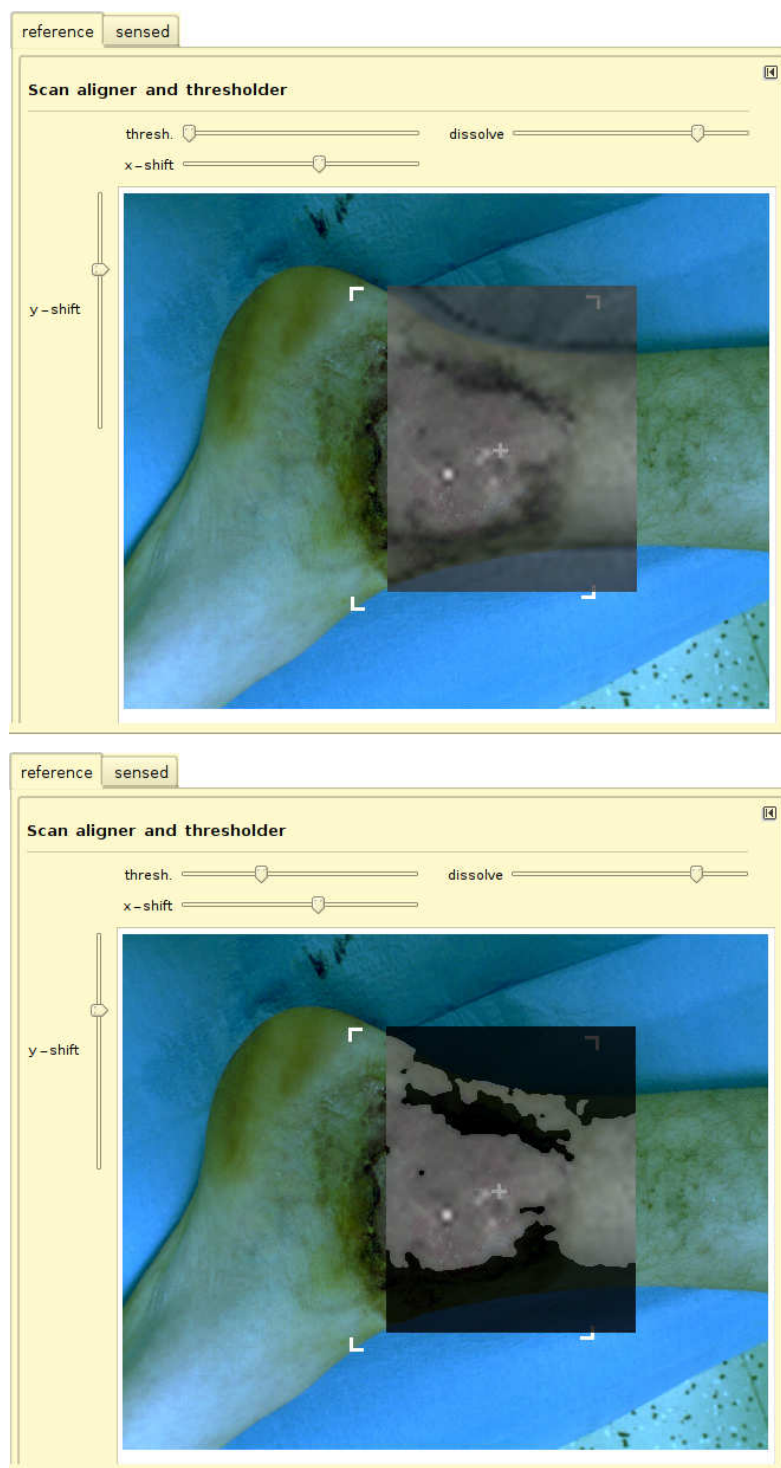
Spojením vztahů (4.8) a (4.6) ihned dostaneme (vzorec pro vertikální rozměr se odvodí analogickým způsobem)

$$n'_x = \left[(N_x - 1) \frac{\ell_x}{L_x} + 1 \right], \quad n'_y = \left[(N_y - 1) \frac{\ell_y}{L_y} + 1 \right], \quad (4.9)$$

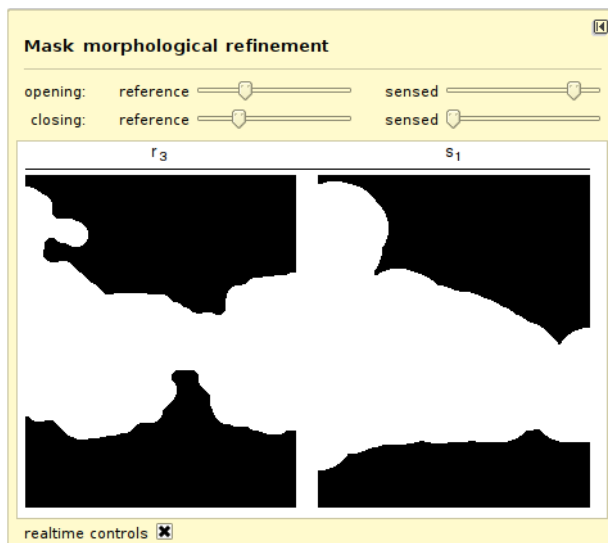
kde $[]$ značí zaokrouhlení na nejbližší celé číslo.

5. Intenzitní sken převzorkovaný podle (4.9) se vloží středem na správné místo fotografie. Bylo experimentálně zjištěno, že „správným místem“ je záměrný kříž v exportované PNG fotografii.¹² Aby nebylo zapotřebí souřadnice kříže zjišťovat pro každou fotografii zvlášť, načte se tento údaj z kalibračního souboru (blíže viz subsekce 4.4.2). Vzhledem k určitému rozptylu není vždy vnoření zcela přesné, proto nastupuje druhý interaktivní panel (viz obrázek 4.6 na straně 69), v němž lze polohu vnořeného skenu jemně doladit pomocí sliderů v obou rozměrech, a zároveň nastavit prahování (slider *thresh.*) masku, která alespoň přibližně odfiltruje oblasti skenu nepatřící do postiženého místa. Při jemném doladění si lze pomoci sliderem pro prolínání (*dissolve*). Důležitý je empirický poznatek, že intenzitní sken obvykle sdílí určité rysy s fotografií a po jisté době zácviu lze spolehlivě poměrně přesně

¹² Ořezové značky tvaru písmene „L“ jsou bohužel velmi nepřesné a mnohdy částečně nebo i zcela chybějí.



Obrázek 4.6. Jemná translační adjustace pozice vnořeného intenzitního skenu a prahování. *Nahoře:* S nulovou prahovou intenzitou. *Dole:* S nenulovou prahovou intenzitou.

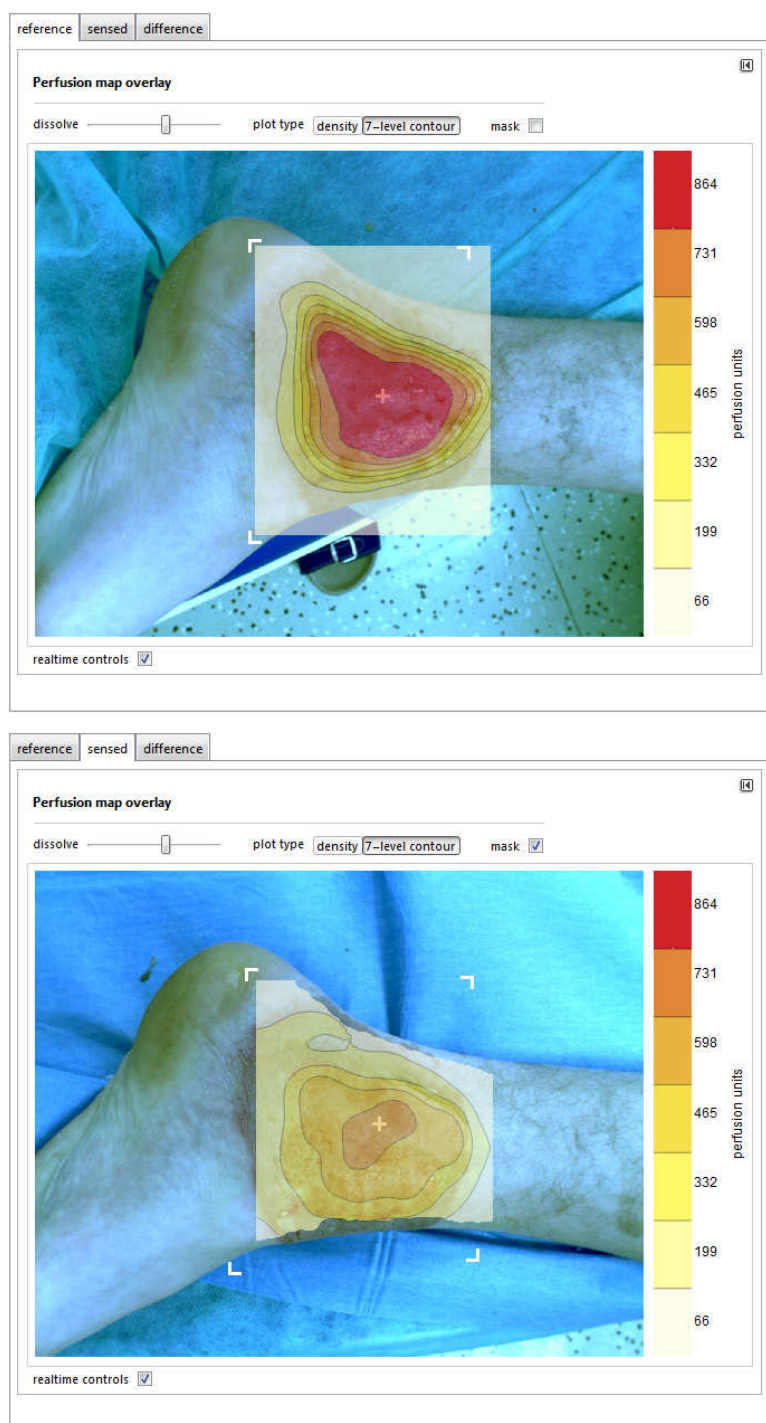


Obrázek 4.7. Aplikace morfologických operací otevření a uzavření binárního obrazu na úpravu a doladění masky. Checkbox *realtime controls* je implicitně zapnutý, jeho vypnutí se doporučuje na méně výkonných počítačích – změny obrazu způsobené změnou parametrů pomocí sliderů se projeví najednou až po ukončení jejich pohybu, nikoli v reálném čase během jejich pohybu.

nalícovat intenzitní sken na fotografii.¹³ Operaci provedeme jak pro referenční, tak pro subtrahovaný (sensed) sken, k nimž je přístup pomocí tabů v horní části interaktivního panelu.

6. Pomocí interaktivních morfologických operací otevření a uzavření binárního obrazu (viz např. [50, 59]) provedeme úpravu masky. Pomocí horních sliderů masky „otevíráme“, tj. zaplňujeme malé bílé „díry“ v černých oblastech, pomocí dolních sliderů masky „zavíráme“, tj. odstraňujeme malé reziduální černé artefakty v bílých oblastech (viz obrázek 4.7).
7. Výsledek je v programu PIPPA prezentován na interaktivním panelu znázorněném na obrázku 4.8 na straně 71. Opět je zde možnost prolínání fotografie a mapy perfuze (*dissolve*), volba typu mapy (denzitní nebo vrstevnicová) a možnost odmaskování oblastí s nízkou intenzitou odraženého laserového záření.

¹³ Za povšimnutí stojí, že v tomto bodě není třeba provádět rotaci, neboť intenzitní i perfuzní sken jsou defintoricky „paralelní“ s fotografií. Škálování bylo ošetřeno vztahy (4.9), translace pomocí údajů v kalibračním souboru a jemným doladěním popsáním v tomto bodě.



Obrázek 4.8. Výsledná prezentace překryvů pro referenční i subtrahovaný sken. Je zapnuta volba vrstevnicového grafu, a pomocí slideru *dissolve* lze prolínat od neviditelného překryvu až po úplné překrytí fotografie mapou perfuzního skenu. Na horním (referenčním) překryvu je maskování vypnuto, na dolním (subtrahovaném) je zapnuto.

4.4.1. Metoda DSPTA

Panel popsaný výše v bodě 7 je prvním z diagnostických výstupů programu PIPPA. Pro druhý výstup, vytvořený vlastní metodou DSPTA, je však třeba přidat další kroky.

8. Klíčovým krokem je registrace (slícování) vybraného páru skenů. Na obrázku 4.9 je znázorněn interaktivní panel obsahující všechny potřebné ovlá-



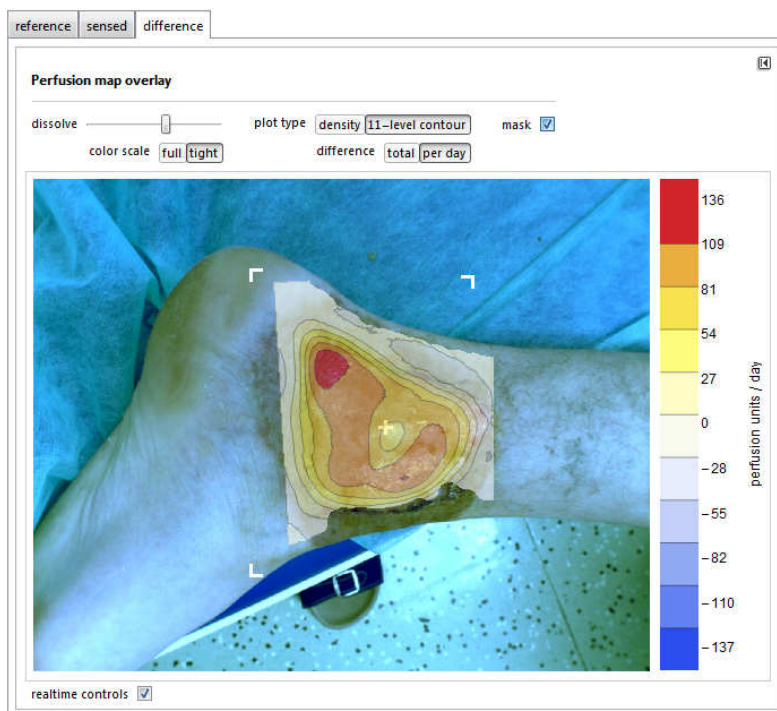
Obrázek 4.9. Ukázka interaktivního panelu pro registraci (slícování) páru skenů v programu PIPPA. Kromě ovládacích prvků popsaných v textu se na panelu nalézají tlačítka sloužící k výběru převzorkování, přičemž zleva doprava roste kvalita, ale i náročnost na výpočetní výkon. Při ponechání implicitní volby Nearest jsou hrany subtrahovaného obrazu mírně „vroubkované“. Vzhledem k rychlému vývoji nemusí obrázek odpovídat přesně prezentaci na obhajobě.

dače pro definování translace, rotace a škálování, jejichž kompozici budeme zde nazývat *podobnostní transformací*.¹⁴ Referenční fotografie přitom zůstává nehybná, zatímco subtrahovaná (sensed) se pomocí ovladačů přizpůsobuje fotografii referenční. Kromě základních transformačních ovladačů zde opět najdeme prolínací slider *dissolve*, a dále checkbox *auto scale*, který aplikuje škálování vypočtené na základě známých vzdáleností hlavice od skenovaného místa pomocí kalibrační formule pro velikost fotografie (viz subsekce 4.4.2). Oba škálovací slidery jsou nezávislé, takže je možno měnit rozměry subtrahované fotografie v obou směrech nezávisle. To je motivováno možnostmi kompenzovat nepřesnost ve směru, ve kterém se nalézá snímací hlavice, kdy jeden rozměr je jinak změněn než druhý.¹⁵ Ckeckboxem *keep aspect* lze oba slidery svázat; ovládáním horizontálního se odpovídajícím způsobem bude pohybovat i vertikální. Další podrobnosti jsou uvedeny v popisce obrázku. Výsledkem těchto operací je pět parametrů udávajících translaci (v programu pojmenovaných xTr , yTr), škálování (v programu pojmenovaných xSc , ySc) a rotaci (v programu pojmenovaného $xyRot$) subtrahovaného skenu vůči skenu referenčnímu.

9. Perfuzní mapy se převzorkují do šedotónových obrázků podle vztahů (4.9), přičemž se zachová vzájemný poměr velikostí perfuze referenčního a subtrahovaného skenu. Díky použití šedotónových obrázků jsou hodnoty perfuze přepočteny do intervalu $\langle 0, 1 \rangle$. Následně jsou vsazeny do černé matrice o velikosti fotografie středem do místa záměrného kříže, jehož souřadnice jsou přesně doladěny v bodě 5.
10. Na takto získaný subtrahovaný obrázek velikosti fotografie se aplikuje podobnostní transformace, jejíž parametry xTr , yTr , xSc , ySc , $xyRot$ byly určeny v bodě 8.
11. Nyní již lze „odečíst“ transformovaný subtrahovaný obrázek od referenčního obrázku ve smyslu subtrakce pixel po pixelu. Z výsledku se pak odstraní přebytečné okraje. Hodnoty diferenčního obrázku se převedou do barevné škály, výsledným obrazem se překryje (s regulovatelným stupněm průhlednosti) příslušné místo referenční fotografie (viz obrázek 4.10 na straně 74).
12. Na masky získané v bodě 6 se uplatní podobný postup: vsadí se do binární matrice o velikosti fotografie, na subtrahovanou se aplikuje podobnostní

¹⁴ Podobnostní transformace je speciálním případem afinní transformace, jež je definována jako kompozice lineární transformace a translace, a připouští navíc lineární deformaci (např. může zobrazovat obdélník na kosodélník).

¹⁵ V klinické praxi je velmi obtížné přesný směr dodržet. Chyba vznikající při malých úhlových odchylkách není velká a má kvadratický charakter $1 - \cos \varphi \sim \varphi^2$, takže ve většině případů není nutno nezávislého škálování použít.



Obrázek 4.10. Výsledná prezentace překryvu pro diferenční perfuzní mapu. Je zapnuta volba vrstevnicového grafu, pomocí slideru *dissolve* lze prolínat od zcela neviditelného překryvu až po úplné překrytí fotografie mapou perfuzního skenu. Barevná škála je typu *tight*, tj. číselný rozsah je volen tak, aby se plně využil celý rozsah barev (buď kladný jako v tomto případě, nebo záporný). Rozdíly perfuze jsou přepočteny na 24 hodin.

transformace, a oba binární obrázky se sloučí pomocí operace logického AND (vznikne maska průhledná jen v místech průniku). Takto připravenou masku lze použít na volitelné omezení překryvu z předešlého bodu.

Ukázky prezentované v této sekci byly vybrány z množství již otestovaných LDPI skenů. Předpokládáme, že program PIPPA bude extenzivně testován na všech datech, která dosud poskytlo a v budoucnu poskytne PC FNO (viz sekce 4.3) v rámci spolupráce s lékaři participujícími na projektu OP VK CZ.1.07/2.2.00/28.0271 *Intenzifikace internacionálních, mezioborových a intersektoriálních přístupů při studiu* na Slezské univerzitě v Opavě.

4.4.2. Kalibrace

Experimentálně bylo zjištěno, že skenovací kroky v horizontálním směru d_x a ve vertikálním směru d_y dané vztahem (4.6) nejsou stejné, ačkoli hlavičkový údaj o skenovacím kroku je programem LDPIwin 3.1.3 prezentován jako společný

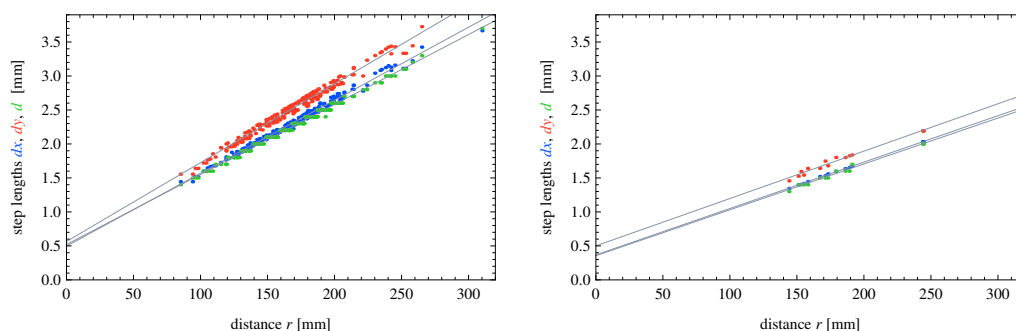
pro oba směry (viz subsekce 4.3.1). Navíc potřebujeme kvůli vztahům (4.9) informace o reálných rozměrech objektů na fotografiích (které nejsou dostupné vůbec). Konečně potřebujeme pro správné umístění skenu do fotografie informaci o pozici záměrného kříže. Pro vyřešení těchto dílčích problémů bylo přistoupeno ke kalibraci.

Kalibrace spočívá ve třech krocích:

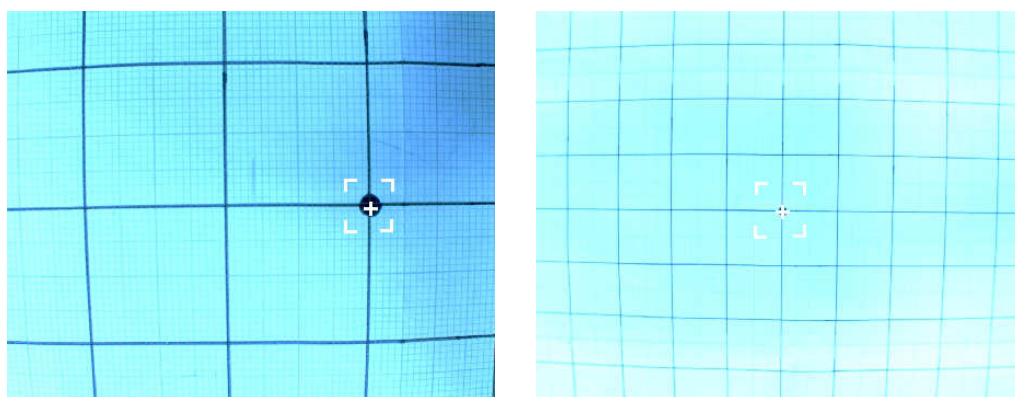
1. Fitování závislosti skenovacích kroků d_x a d_y a reálných rozměrů skenu ℓ_x a ℓ_y na vzdálenosti r hlavice od skenovaného objektu, a to pro rozlišení Low, Medium i High.¹⁶ Údaje pro fit byly extrahovány z veškerých skenů, jež byly k dispozici, pomocí skriptu `HeadSizes.sh` uvedených v Příloze č. 4. Výsledek fitu skenovacích kroků d_x a d_y pro rozlišení Low a Medium je na obrázku 4.11 na straně 76. (Reálné rozměry skenu ℓ_x a ℓ_y se vypočtou ze vztahů (4.6)).
2. Fitování závislosti reálných rozměrů fotografie L_x a L_y na vzdálenosti r hlavice od skenovaného objektu. Tyto rozměry jsou na rozlišení skenů nezávislé. Údaje pro tento fit byly zjišťovány následujícím způsobem. Přístrojem PeriScan PIM 3 byl snímán a skenován milimetrový papír při jedenácti různých vzdálenostech r hlavice od papíru v rozmezí 85 mm do 310 mm. Z fotografií pak byly vizuálně odečteny rozměry zobrazené oblasti (viz obrázek 4.12 na straně 76). Výsledek fitu je na obrázku 4.13 na straně 77. (Perfuzní mapy jsou pro tento úkon irelevantní a *.ldi soubory slouží k uložení vzdálenosti r a k exportu fotografie opatřené záměrným křížem.)
3. Fitování relativní pozice (h_x, h_y) , $0 \leq h_x \leq 1$, $0 \leq h_y \leq 1$ záměrného kříže od levého a dolního okraje fotografie. Tato pozice byla zjišťována poloautomaticky, pomocí metod detekce význačných rysů v obrazu, a následným interaktivním jemným ručním doladěním (viz obrázek 4.14 na straně 77). Vstupními údaji byly fotografie příslušné všem dostupným skenům. Toto fitování je závislé na rozlišení skenů. Výsledek fitu pro rozlišení Low a Medium je na obrázku 4.15 na straně 78.

Pro účely kalibrace byl napsán program `PeriScanPIM3.nb` v systému *Mathematica*[®], jehož výpis tvoří Přílohu č. 2 (odkud je také převzat obrázek 4.14). Výstupem programu je kalibrační soubor (package) `PeriScanPIM3.m`, v němž jsou uloženy funkční předpisy všech uvedených fitů, a jenž je načítán programem PIPPA. Výpis kalibračního souboru `PeriScanPIM3.m` tvoří Přílohu č. 3.

¹⁶ Pro rozlišení High je k dispozici velmi mále údajů – pouze jediný testovací sken z distribuce LDPIwin 3.1.3, takže jeho výsledky jsou nevěrohodné.



Obrázek 4.11. Grafická reprezentace lineárního fitu závislosti skenovacích kroků d_x (modře) a d_y (červeně) na vzdálenosti r hlavičky od objektu. Vlevo: Rozlišení Low. Vpravo: Rozlišení Medium. Vertikální (y-ový) krok je větší než horizontální. Zelenou barvou je pro srovnání vyznačeny fit společné hlavičkové hodnoty skenovacího kroku.

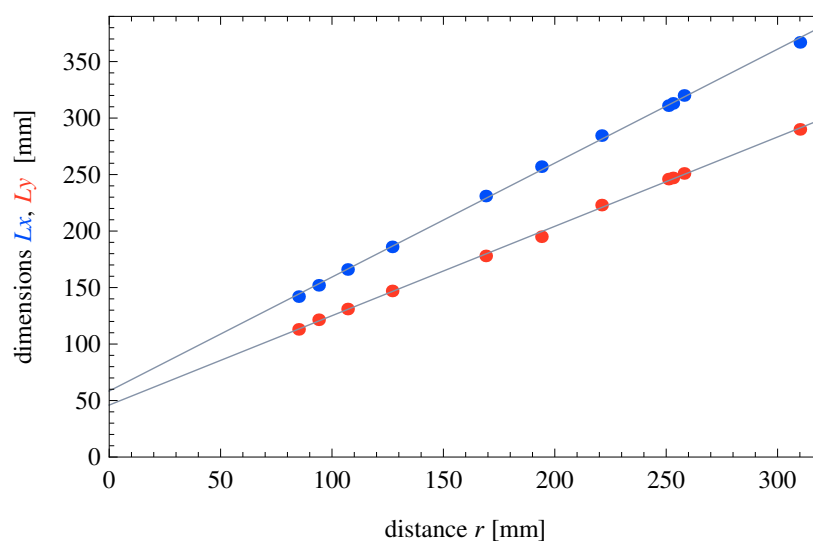


Obrázek 4.12. Rastry použité k fitování závislosti reálných rozměrů fotografie L_x a L_y na vzdálenosti r hlavičky od skenovaného objektu. Vlevo: Nejmenší použitá vzdálenost $r = 85$ mm. Vpravo: Největší použitá vzdálenost $r = 310$ mm. Zároveň je vidět, že relativní poloha záměrného kříže závisí na vzdálenosti skenovací hlavičky, což je způsobeno rozdílnou pozicí kamery a výstupu laseru v hlavičce.

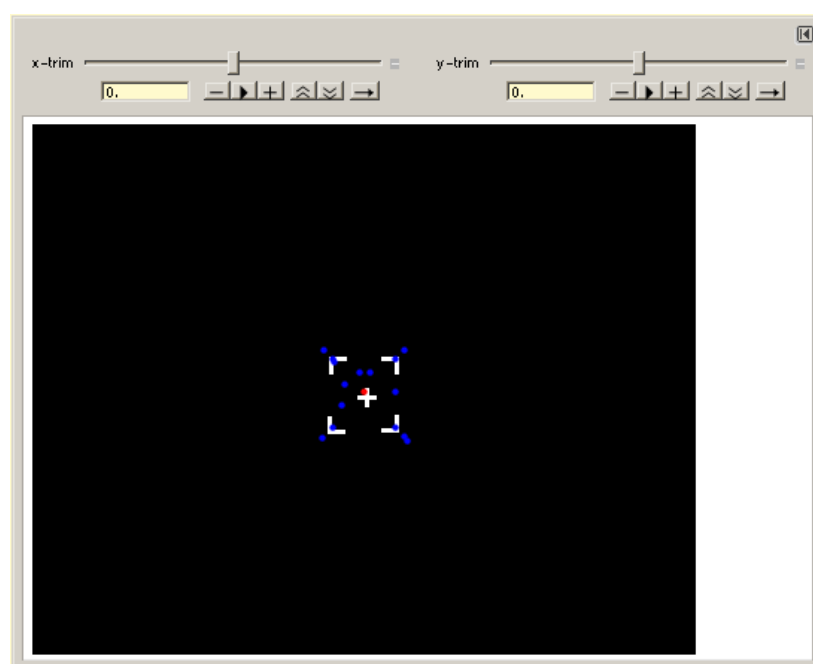
4.5. Implementace v systému Mathematica®

Existuje mnoho možností, jak implementovat výše naznačené postupy, od nízkoúrovňových kompilovaných jazyků po komplexní prostředí typu *Mathematica*®, *Matlab* či *Maple*. Po zvážení kladů a záporů různých přístupů padla volba na systém *Mathematica*® firmy Wolfram Research. Hlavní roli v rozhodnutí pro tento systém hrály následující skutečnosti:

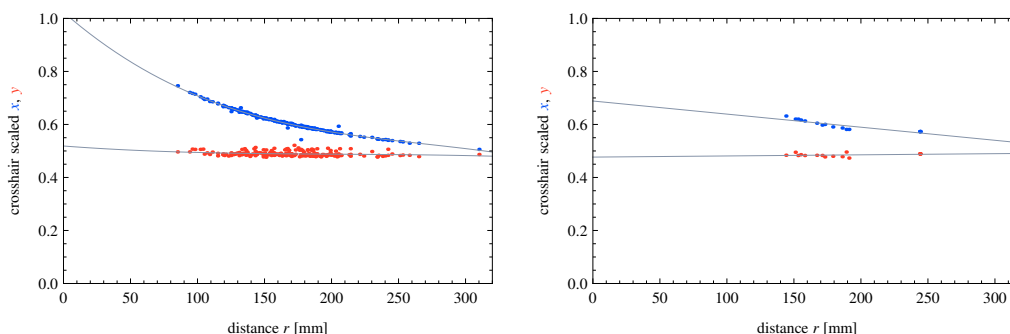
- *Mathematica*® má ve verzi použité pro implementaci programu PIPPA (tj. 8.0.4) kromě funkcí pro numerické a symbolické výpočty [52] vynikající podporu pro manipulaci a zpracování obrazu [53, 54].



Obrázek 4.13. Grafická reprezentace lineárního fitu závislosti reálných rozměrů fotografie L_x a L_y na vzdálenosti r hlavičky od skenovaného objektu.



Obrázek 4.14. Interaktivní panel pro určování relativní pozice záměrného kříže. Modře jsou vyznačeny automaticky detekované význačné body v binárním obraze, červeně je vyznačeno jejich těžiště, jehož polohu lze jemně adjustovat přesně do záměrného kříže pomocí sliderů.



Obrázek 4.15. Grafická reprezentace fitu závislosti relativní pozice záměrného kříže h_x (modře) a h_y (červeně) na vzdálenosti r hlavice od skenovaného objektu. *Vlevo:* Rozlišení Low, kubický fit. *Vpravo:* Rozlišení Medium, lineární fit. Čím blíže je hlavice, tím více se horizontální pozice h_x přibližuje pravému okraji fotografie (srovnej obrázek 4.12), zatímco vertikální pozice h_y je téměř na konstantní hodnotě 0.5.

- Funkce pro manipulace a zpracování obrazu se bezešvým způsobem dají kombinovat s grafickými příkazy, typicky např. příkazy pro tvorbu denzitních a vrstevnicových map.
- Schopnost dynamické interaktivity, která umožňuje uživateli pomocí interaktivních prvků měnit v průběhu sezení parametry a manipulovat v reálném čase s matematickými objekty. Bez této vlastnosti by byla realizace programu PIPPA nemožná [55].
- *Mathematica*[®] je ideální nástroj pro prototyping, kdy se matematické představy snadno realizují pomocí relativně malého počtu řádků kódu do vysoce funkčních modulů.
- Vynikající dokumentace zabudovaná interaktivním způsobem přímo do grafického frontendu programu a dostupná (s poněkud menší mírou interaktivity) online na <http://reference.wolfram.com/mathematica/guide/Mathematica.html>.
- Jistá zkušenost v práci s tímto systémem a jeho momentální dostupnost na pracovišti autorky.
- Firma Wolfram Research spustila v úvodu zmíněný Wolfram Demonstration Project nabízející interaktivní demonstrace, které lze prohlížet ve volně dostupném programu CDF Player (<http://demonstrations.wolfram.com/download-cdf-player.html>) bez nutnosti nákupu programu *Mathematica*[®]. Mezi demonstracemi lze nalézt mnoho i z oblasti zpracování a analýzy obrazu.

Na tomto místě by bylo kontraproduktivní zmiňovat podrobnosti kódu, který je v kompletní podobě – včetně interaktivních panelů – k dispozici v Příloze č. 1. Uvedme alespoň klíčové prvky implementace programu PIPPA pomocí systému Mathematica®.

Program PIPPA je rozdělen do několika sekcí, z nichž každá se zabývá specifickou činností.

Preliminaries Tato sekce obsahuje definice funkcí opakovaně používaných v dalších sekcích, definice konstant, barev, rozměrů, parametrů, inicializačních hodnot a podobně. Obsahuje „záchranná“ tlačítka *Initialize* a *Reset* pro reinicializaci s jinými implicitními parametry (využíváno zvláště ve fázi ladění). Klíčovými funkcemi jsou

- `makeIntyDensityMap`, `makePerfDensityMap`, `makePerfContourMap`,
- `makePerfDifDensityMap`, `makePerfDifContourMap`,
- `perfDataSubtract`,

jež využívají vestavěných funkcí `ListDensityPlot` a `ListContourPlot` pro generování denzitních a vrstevnicových šedotónových i barevných map.

Loading a LDI scan batch Tato sekce umožňuje interaktivní výběr a načtení dávky perfuzních skenů prostřednictvím standardního dialogu, a provádí základní výpočty s načtenými daty a obrázky – filtrace, předkreslení barevných map pro předběžnou prohlídku a podobně.

Selecting LDI scan pair Kód v této sekci vytváří interaktivní panel pro výběr páru skenů z načtené dávky (viz obrázek 4.5 na straně 66). Zde, stejně jako v dalších interaktivních panelech, hraje klíčovou úlohu příkaz `Manipulate`.

Thresholding and fine aligning intensity scans with photos Kód v této sekci vytváří interaktivní panel pro přesné nalícování intenzitního (a tím i perfuzního) skenu na odpovídající místo na fotografii, pro vytvoření intenzitní masky prahováním hodnot intenzity (viz obrázek 4.6 na straně 69), a interaktivní panel pro morfologickou úpravu masky (viz obrázek 4.7 na straně 70). Využívá extenzivně funkce definované v sekci *Preliminaries*.

Digital subtraction perfusion topographic analysis (DSPTA) Kód v této sekci generuje interaktivní panel pro přesnou fúzi vybraného páru fotografií (referenční a subtrahované), což umožňuje stanovení parametrů podobnostní transformace (viz obrázek 4.9 na straně 72).

Perfusion map overlay Tato finální sekce prezentuje výsledky opět ve formě interaktivního panelu se třemi taby, pomocí nichž lze volit pohled na fotografii

s překryvem perfuzní mapou pro referenční a subtrahovaný (viz obrázek 4.8 na straně 71) i diferenční (viz obrázek 4.10 na straně 74) sken.

Volba systému *Mathematica*[®] pro implementaci prototypu programu PIPPA se ukázala být velmi výhodnou. Při dalším vývoji hodláme v nastoupeném trendu a – bude-li možnost – tento systém i nadále využívat.

Závěr

Laserová technologie našla od doby vzniku významné uplatnění v mnoha oborech lidské činnosti, lékařské obory nevyjímaje. Z toho důvodu je znalost principů laserového záření na určité úrovni důležitá také pro studenty biomedicínských a příbuzných oborů, kteří se v praxi s laserovou diagnostikou a terapií mohou setkat. První část práce byla proto koncipována převážně jako rešeršní podpůrný výukový text. Předpokládáme její další vývoj s nadějí, že skutečně časem dostojí svému určení.

Znalost principů laserového záření a Dopplerova jevu umožnila konstrukci řady přístrojů firmy Perimed řady PeriScan PIM sloužících k diagnostice onemocnění různých etiologií. Velký potenciál má metoda zobrazování laserovou dopplerometrií především v diagnostice popálenin, kde se používá k určování hloubky a ke stanovení léčby popálenin.

Software dodávaný standardně s uvedeným přístrojem umožňuje řadu zkoumání skenované oblasti včetně výběru oblastí zájmu a jejich statistické kvantifikace. V dosavadní metodice diagnostiky hloubky popálenin pomocí přístroje PeriScan PIM 3 však lékaři postrádali možnost přehledného grafického vyjádření – mapy perfuze – a jejího nalícování na fotografii postiženého místa s možností prolínání, a zejména možnost nalícování mapy perfuzních diferencí jak celkových, tak vztažených na vhodnou časovou jednotku (24 hodin).

Zatímco první požadavek již modernizovaný software firmy Perimed AB splňuje, o řešení druhého požadavku jsme se pokusili – ve formě postupu nazvaného DSPTA – v této diplomové práci. Předpokládáme v tomto směru dlouhodobou spolupráci s PC FNO a další vývoj zde prezentované metody PIPPA, která bude testována lékaři PC FNO v klinické praxi s ambicí dotažení do rutinní aplikace při diagnostice popálenin.

V této diplomové práci jsme vycházeli z případů, které byly diagnostikovány a léčeny na Popáleninovém centru Fakultní nemocnice v Ostravě. Správná diagnostika a zvolený postup léčby minimalizující možné postterapeutické komplikace jsou zvláště důležité v případě jedné z rizikových skupin popáleninových úrazů – malých dětí (batolat).

Perspektivy do budoucna

- Pokusit se o metodu umožňující v co největší míře robustní automatizaci registrace skenů.
- Zlepšit metody filtrování skenů, zejména pomocí waveletových metod a adaptace filtru na šumové parametry skenu.
- Možnost přenosu perfuzních map na monitor přímo na operačním sále, kde by sloužily jako vodítko pro operátéra.
- Po dostatečném vyzrání metody – pokud by se úspěšně etablovala – se pokusit o reimplementaci v podobě programu nezávislého na systému *Mathematica*[®].

Literatura

- [1] NIST — NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY: The NIST Reference on Constants, Units, and Uncertainty, February 1998, last update: June 2011, URL <http://physics.nist.gov/cuu/index.html>.
- [2] NAVRÁTIL, L.; ROSINA, J. ET AL.: *Medicínská biofyzika*. Grada Publishing, a.s., Praha, 1. edition, 2005, ISBN 80-247-1152-4.
- [3] VOKURKA, M.; HUGO, J. ET AL.: *Praktický slovník medicíny*. Maxdorf, Praha, 7. rozšířené edition, 2004, ISBN 80-7345-009-7, URL <http://www.maxdorf.cz/>.
- [4] ŠKRABÁNEK, P. & MCCORMICK, J.: *Pošetilosti a omyly v medicíně. Skeptický průvodce pro lékaře a nebojácné pacienty*. Edice 21, Nakladatelství Lidové noviny, Praha, 1995, ISBN 80-7106-129-8.
- [5] SISYFOS — OBČANSKÉ SDRUŽENÍ: Věstník Sisyfa, online, navštíveno v lednu 2012, URL <http://www.sisyfos.cz/>.
- [6] ROZMAN, J. ET AL.: *Elektronické přístroje v lékařství*. Academia, Praha, 1. edition, 2006, ISBN 80-200-1308-3, URL <http://www.academiaknihy.cz/>.
- [7] DOWSETT, D. J.; KENNY, P. A. & JOHNSTON, R. E.: *The Physics of Diagnostic Imaging*. Hodder Arnold, 2. edition, July 2006, ISBN 0-340-80891-8, URL <http://www.hoddereducation.com/>.
- [8] KASAL, P. & SVAČINA, Š.: *Lékařská informatika*. Karolinum, Praha, 1998, ISBN 80-7184-594-9.
- [9] KLOPPENBERG, F. W.; BEERTHUIZEN, G. I. & TEN DUIS, H. J.: Perfusion of burn wounds assessed by laser doppler imaging is related to burn depth and healing time. *Burns journal of the International Society for Burn Injuries*, **27**(4), pp. 359–363, 2001, URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11348744>.
- [10] ŠTĚTINSKÝ, J.; KLOSOVÁ, H. & ŠALOUNOVÁ, D.: *The blood perfusion monitoring in the burn wound area by LDI in a process of healing time and its clinical meaning*. 14th European Burns Association Congress, 14–17 September 2011, Hague, The Netherlands, 2011.
- [11] ŠTĚTINSKÝ, J. & KLOSOVÁ, H.: Ústní sdělení, November 2011, Fakultní nemocnice Ostrava.
- [12] ŠTĚTINSKÝ, J. & KLOSOVÁ, H.: Ústní sdělení, April 2012, Fakultní nemocnice Ostrava.

- [13] UNIVERSITY OF CHICAGO PRESS (MARGARET D. F. MAHAN): *The Chicago Manual of Style*. University of Chicago Press, Chicago and London, 15th edition, 2003, ISBN 0-226-10403-6, URL <http://www.chicagomanualofstyle.org/>.
- [14] PERIMED AB: PeriScan PIM 3 System – Extended User Manual, July 2008, retrieved 2012, URL <http://www.perimed.se/>.
- [15] BEISER, A.: *Úvod do moderní fyziky*. Academia, Praha, 1978, ISBN 21-046-78.
- [16] SALEH, B. E. A. & TEICH, M. C.: *Základy fotoniky, sv. 3*. MatFyzPress, Praha, 1. edition, 1995, ISBN 80-85863-05-7.
- [17] TRKAL, V. & MATĚJEC, V.: Dvě jubilea: 110 let Planckovy konstanty a 50 let LASERu. *Pokroky Mat. Fyz. Astronom.*, **56**(3), pp. 207–212, 2011.
- [18] MELLES GRIOT: Basic Laser Principles. Laser Guide, Chap. 36, 2005, získáno v lednu 2012, URL <http://www.bgu.ac.il/~glevi/website/Guides/Lasers.pdf>.
- [19] CVI MELLES GRIOT: Introduction to Laser Technology. Laser Guide – CVI Melles Griot Technical Guide, Vol. 2, Issue 1, 2009, získáno v lednu 2012, URL <http://www.cvimellesgriot.com/>.
- [20] SVELTO, O.: *Principles of Lasers*. Springer, New York, 4th edition, 1998, ISBN 0-306-45748-2, URL <http://springeronline.com/>.
- [21] CSELE, M.: *Fundamentals of light sources and lasers*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, USA, 1st edition, 2004, ISBN 0-471-47660-9.
- [22] ŠULC, J.: Lasery a jejich aplikace, October 2002, získáno 2012, URL <http://www.plslaser.cz/pdf/lasery.pdf>.
- [23] JELÍNKOVÁ, H.: Lasery – zdroje koherentního záření. *Čs. čas. fyz. A*, **60**(4–5), pp. 200–203, 2010, ISSN 0009-0700, URL <http://www.cscasfyz.fzu.cz/>.
- [24] CELAT: Centrum laserových a automatizačních technologií, 2012, CELAT je součástí Západočeské univerzity v Plzni. Navštíveno v lednu 2012, URL <http://laser.zcu.cz/>.
- [25] FORMÁNEK, J.: *Úvod do kvantové teorie*, volume I, II. Academia, Praha, 2. edition, 2004, ISBN 80-200-1176-5.
- [26] DRŽÍK, M.: Laser a jeho aplikácie – začiatky v Československu. *Čs. čas. fyz. A*, **60**(4–5), pp. 246–250, 2010, ISSN 0009-0700, URL <http://www.cscasfyz.fzu.cz/>.
- [27] PENHAKER, M.: *Lékařské terapeutické přístroje*. VŠB-TU Ostrava, Ostrava, 2007.
- [28] FILKIN, D. & HAWKING, S. W.: *Stephen Hawking's Universe: The Cosmos Explained*. Basic Books, New York, 1997, ISBN 9780465081998.
- [29] PERIMED AB: Perimed Instruments, 2012, navštíveno v březnu 2012, URL <http://www.perimed-instruments.com/>.
- [30] VOKURKA, M.; HUGO, J. ET AL.: *Velký lékařský slovník*. Jesenius, Maxdorf, Praha,

8. edition, 2008, ISBN 978-80-7345-166-0, URL <http://www.maxdorf.cz/>.
- [31] PERIMED AB: Objective Burn Evaluation: Assessment of Burn Wound Depth Using Blood Perfusion Imaging, 2011, navštíveno v březnu 2012, URL <http://www.perimed-instruments.com/>.
- [32] GANONG, W. F.: *Přehled lékařské fyziologie*. Galén, Praha, 20. edition, 2005, ISBN 80-7262-311-7, URL <http://www.lekarskeknihy.cz/?id=80-7262-311-7>.
- [33] TROJAN, S. & SCHREIBER, M.: *Atlas biologie člověka*. Scientia, Praha, 2007, ISBN 80-7183-257-X.
- [34] DUBOIS, D. & DUBOIS, E. F.: A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. *Arch. Intern. Medicine*, **17**, pp. 863–871, 1916.
- [35] WANG, Y.; MOSS, J. & THISTED, R.: Predictors of body surface area. *J. Clin. Anesth.*, **4**(1), pp. 4–10, 1992.
- [36] FOnET, SPOL. S R.O.: Therapy Systems, 2009, navštíveno v únoru 2012, URL <http://www.therapy.cz/laserove-zareni.php>.
- [37] STŘEDA, L. & VÍŠEK, V.: Fototerapie v estetické medicíně 2, 2012, navštíveno v březnu 2012, URL <http://www.facelifting.cz/biolampy-a-lasery/>.
- [38] HRAZDIRA, I. & MORNSTEIN, V.: *Lékařská biofyzika a přístrojová technika*. Neptun, Brno, 2001.
- [39] POLÁKOVÁ, M.; KILÍK, R. & GÁL, P.: Nízkointenzitná laserová terapia a hojenie rán: základ interakcií laser-tkanivo a krátky prehľad in vitro a in vivo štúdií. *Čs. čas. fyz. A*, **60**(4–5), pp. 274–279, 2010, ISSN 0009-0700, URL <http://www.cscasfyz.fzu.cz/>.
- [40] PIŠTORA, J.: Ústní sdělení, April 2012, VŠB-TU Ostrava.
- [41] MAIKALA, R. V.: Modified Beer's Law – historical perspectives and relevance in near-infrared monitoring of optical properties of human tissue. *Int. J. of Industrial Ergonomics*, **40**(2), pp. 125–134, March 2010, URL <http://dx.doi.org/10.1016/j.ergon.2009.02.011>.
- [42] BAXTER, G. D.: *Therapeutic Lasers: Theory and Practice*. Churchill Livingstone, 1st edition, April 1994, ISBN 978-0443043932, URL <http://www.amazon.com/exec/obidos/ASIN/0443043930/laserworld>.
- [43] OSHIRO, T.: *Laser Treatment for Naevi*. John Wiley & Sons, 1st edition, May 1995, ISBN 978-0471952435, URL <http://www.amazon.com/exec/obidos/ASIN/0471952435/laserworld>.
- [44] OSHIRO, T.: *Low Reactive Level Laser Therapy: Practical Application*. John Wiley & Sons, 1st edition, December 1991, ISBN 978-0471928454, URL <http://www.amazon.com/exec/obidos/ASIN/0471928453/laserworld>.
- [45] SEIDLOVÁ, D.: Anesteziologická péče u popálených. ARO FN Brno Bohunice, URL <http://portal.med.muni.cz/>.

- [46] ZÁMEČNÍKOVÁ, I.: Hloubka a lokální terapie popálení. Popáleninové centrum FN Ostrava.
- [47] PAPE, S. A.; SKOURAS, C. A. & BYRNE, P. O.: An audit of the use of laser Doppler imaging (LDI) in the assessment of burns of intermediate depth. *Burns journal of the International Society for Burn Injuries*, **27**(3), pp. 233–239, 2001, URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11311516>.
- [48] KUBLI, S.; WAEBER, B.; DALLE-AVE, A. & FEIHL, F.: Reproducibility of laser Doppler imaging of skin blood flow as a tool to assess endothelial function. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **36**(5), pp. 640–648, November 2000, URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11065225>.
- [49] RIORDAN, C. L.; MCDONOUGH, M.; DAVIDSON, J. M.; CORLEY, R.; PERLOV, C.; BARTON, R.; GUY, J. & NANNEY, L. B.: Noncontact laser Doppler imaging in burn depth analysis of the extremities. *J. Burn Care Rehabil.*, **24**(4), pp. 177–186, July 2003, URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14501410>.
- [50] SOJKA, E.: *Digitální zpracování a analýza obrazu*. VŠB-TU Ostrava, Fakulta elektrotechniky a informatiky, Ostrava, 1. edition, 2000, ISBN 80-7078-746-5, URL http://mrl.cs.vsb.cz/people/sojka/dzo_course.html.
- [51] GOSHTASBY, A. A.: *2-D and 3-D Image Registration for Medical, Remote Sensing, and Industrial Applications*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, USA, 2005, ISBN 0-471-64954-6.
- [52] WELLIN, P. R.; GAYLORD, R. J. & KAMIN, S. N.: *An Introduction to Programming with Mathematica*. Cambridge University Press, Cambridge, 3rd edition, 2005, ISBN 0-521-84678-1, URL <http://www.cambridge.org/>.
- [53] MANGANO, S.: *Mathematica Cookbook. Building Blocks for Science, Engineering, Finance, Music, and More*. O'Reilly, Sebastopol, 1st edition, 2010, ISBN 978-0-596-52099-1, URL <http://www.oreilly.com/>.
- [54] RUSKEEPÄÄ, H.: *Mathematica Navigator. Mathematics, Statistics, and Graphics*. Academic Press (an imprint of Elsevier), Amsterdam, 3rd edition, 2009, ISBN 978-0-12-374164-6, URL <http://elsevier.com/>.
- [55] GRAY, T. & D'ANDRIA, L.: *Dynamic Interactivity*. Wolfram Mathematica® Tutorial Collection, Wolfram Research, Inc., Champaign, IL, 2008, ISBN 978-1-57955-067-7, for use with Wolfram Mathematica® 7.0 and later, URL <http://reference.wolfram.com/>.
- [56] DICK, S.; RIDDLE, A. & STEIN, D.: *Mathematica® in the Laboratory*. Cambridge University Press, Cambridge, 1st edition, May 1997, ISBN 0-521-49906-2.
- [57] BRONZINO, J. D.: *The Biomedical Engineering Handbook*. CRC Press, 1st edition, 1995, ISBN 978-0849383465.
- [58] CARR, J. J. & BROWN, J. M.: *Introduction to Biomedical Equipment Technology*. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, USA, 4th edition, 2000, ISBN 0130104922.

-
- [59] ŽÁRA, J.; BENEŠ, B.; SOCHOR, J. & FELKEL, P.: *Moderní počítačová grafika*. Computer Press, Brno, 2. edition, 2004, ISBN 80-251-0454-0, URL <http://www.knihy.cpress.cz/>.
- [60] KNEÖAUREK, K.; IVANOVIC, M.; MACHAC, J. & WEBER, D. A.: Medical image registration. *Europhysics News*, **31**(4), pp. 5–8, July/August 2000, ISSN 0531-7479, 1432-1092 (electronic edition), URL <http://www.eps.org/>.
- [61] REKTORYS, K.: *Přehled užité matematiky*. Prometheus, Praha, 1995.
- [62] NELSON, D.: *The Penguin Dictionary of Statistics*. Penguin Reference, Penguin Books, London, 2004, ISBN 0-140-51496-1, URL <http://www.penguin.com/>.
- [63] SWEDISH LASER MEDICAL SOCIETY: Laser World. Navštíveno v lednu 2012, URL <http://www.laser.nu/>.
- [64] WALKER, J. S.: *A Primer on Wavelets and Their Scientific Applications*. Chapman & Hall/CRC Press, Boca Raton, 1999, ISBN 0-8493-8276-9.
- [65] PRESS, W. H.; TEUKOLSKY, S. A.; VETTERLING, W. T. & FLANNERY, B. P.: *Numerical Recipes in C: The Art of Scientific Computing*. Cambridge University Press, Cambridge, 2. edition, 1997, ISBN 0-521-43108-5, URL <http://www.nr.com/>.
- [66] ROZMAN, J.: *Lékařská přístrojová technika 3*. VUT, Brno, 1. edition, 1992, ISBN 80-214-1667-X.
- [67] MINISTERSTVO VNITRA ČESKÉ REPUBLIKY: Sbírka zákonů č. 480/2000, 2010, získáno 2012, URL <http://www.aplikace.mvcr.cz/archiv2008/sbirka/2000/sb139-00.pdf>.

Seznam příloh

Příloha č. 1: Výpis exportu souboru `PerImPPA.nb` (implementace PIPPA v systému *Mathematica*[®]). 23 stran včetně titulní.

Příloha č. 2: Výpis exportu souboru `PeriScanPIM3.nb` (implementace kalibrace modality PeriScan PIM 3 v systému *Mathematica*[®]). 10 stran včetně titulní.

Příloha č. 3: Výpis textového souboru `PeriScanPIM3.m` (kalibrační výstup generovaný programem v `PeriScanPIM3.nb`, jenž je načítán programem v souboru `PerImPPA.nb`). 4 strany včetně titulní.

Příloha č. 4: Výpis pomocných shellových skriptů

- `DecCommaToDot` – v souborech `*.head`, `*.inty` a `*.perf` zaměňuje desetinnou čárku desetinnou tečkou (některé lokalizované textové editory používají v závislosti na jazykové lokalizaci čárku).
- `PeelOffExt` – zbavuje extenze `.txt` (některé textové editory ji automaticky připojují za `*.head`, `*.inty` a `*.perf`).
- `HeadSizes.sh` – ze všech hlavičkových souborů `*.head` extrahuje rozměr skenu v pixelech, vzdálenost skenovací hlavičky, skenovací krok a rozměr skenu v milimetrech (tím vytváří vstup pro kalibrační program v `PeriScanPIM3.nb`).

4 strany včetně titulní.

Příloha č. 5: Datový nosič CD-ROM s kompletními zdrojovými texty a výslednými soubory jak textové, tak programové složky diplomové práce. Adresářová struktura je uvedena na straně 91.

Adresářová struktura přiloženého CD-ROM

/IBdipContrib Adresář s vlastním příspěvkem.

/IBdipContrib/LDI/PCFNO Perfuzní skeny pocházející z PC FNO (roztříděny podle případů do podadresářů Case<NNN>).

/IBdipContrib/LDI/PIPPA Projekt PIPPA včetně kalibračního výstupu a implicitně načítaných skenů.

/IBdipContrib/LDI/PIPPA-Devel Soubory související s vývojem programu PIPPA, které nejsou nezbytně nutné pro jeho rutinní používání: kalibrace, testování jednotlivých komponent a algoritmů.

/IBdipTyping Adresář se zdrojovými texty v \LaTeX u a se všemi obrázky.

/IBdipTyping/ch Zdrojové texty jednotlivých kapitol.

/IBdipTyping/enclosures Přílohy diplomové práce.

/IBdipTyping/images Všechny obrázky načítané \LaTeX em: vždy ve formátu .eps pro tištěnou verzi, a ve formátu buď .pdf, .png či .jpg pro elektronickou verzi.

/IBdipOutDP V tomto adresáři jsou pro přehlednost shromážděny (v přejmenované podobě) všechny tiskové výstupy včetně příloh.

/IBdipOutDP/BRY0006-DP-2012-LaserDoppMikrovasDiag.pdf
Text diplomové práce – tisková verze.

/IBdipOutDP/BRY0006-DP-2012-LaserDoppMikrovasDiag-S.pdf
Text diplomové práce – verze pro monitor.

/IBdipOutDP/BRY0006-DP-2012-LaserDoppMikrovasDiag.zip
Přílohy diplomové práce (viz strana 89).

Dodatky

Dodatek A

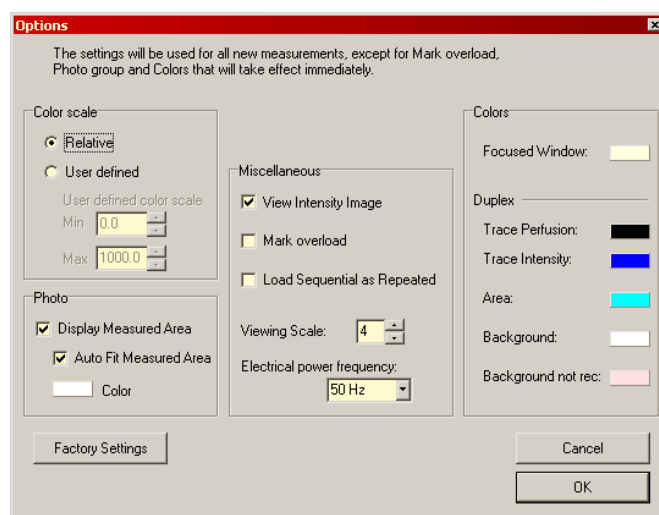
Postup exportu dat z LDI souborů

Potřebný software:

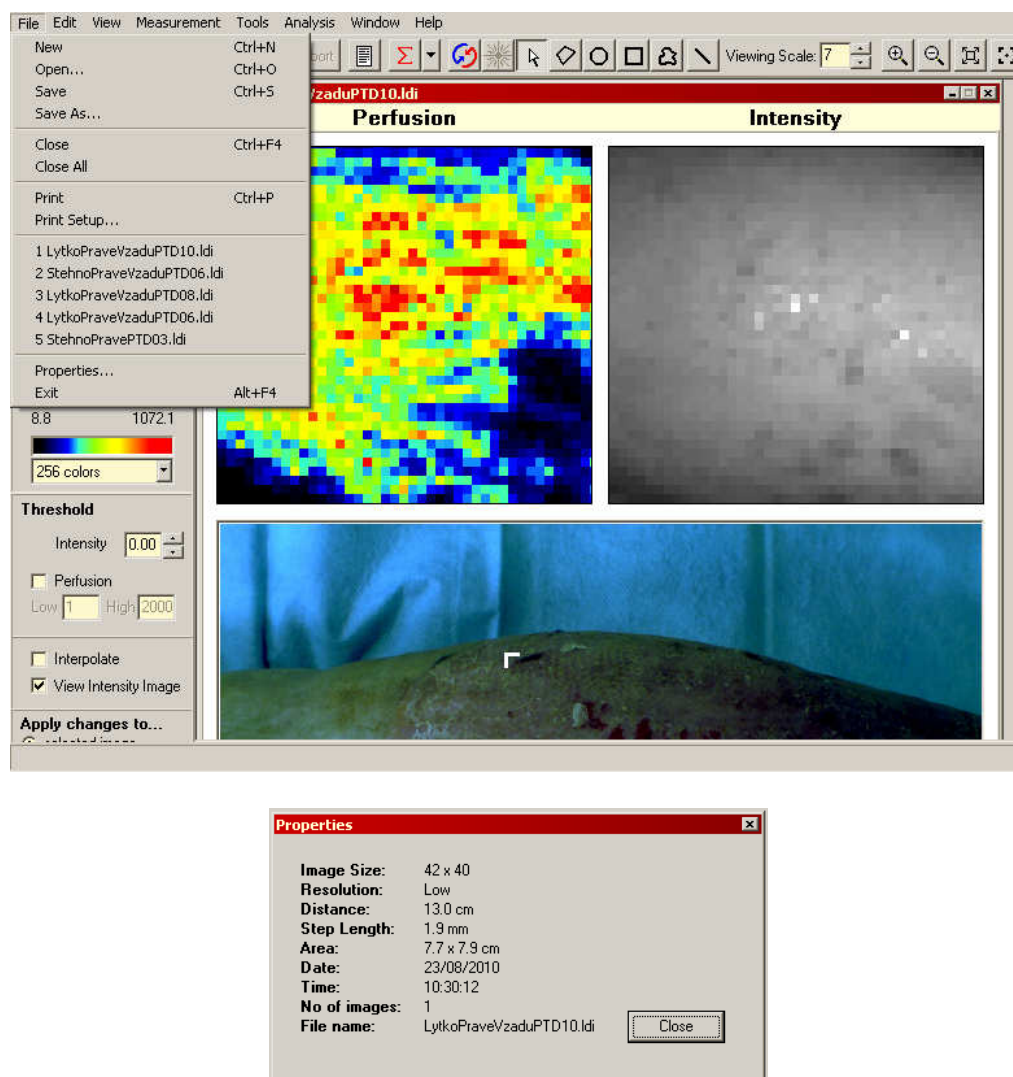
- LDPlwin 3.1.3,
- Notepad nebo jiný textový editor,
- obrázkový editor Gimp, Adobe Photoshop nebo podobný.

1. Před začátkem práce v dialogovém okně Tools → Options. . . zkontrolujeme, zda v rámečku Miscellaneous je vypnut checkbox Mark overload, zda v rámečku Photo je zapnut checkbox Display Measured Area a barva je nastavena na bílou (viz obrázek A.1). Zároveň nastavíme v dolní části Control Panelu (svislý pruh vlevo na obrázcích A.2 až A.3) radiobutton Apply changes to. . . na volbu all open images (implicitně je nastaveno selected image).¹

¹ U monitorů s rozlišením 1024×600 typických pro netbooky jsou radiobuttony menu Apply changes to. . . částečně skryty pod dolním okrajem monitoru a nelze je žádným způsobem odкрыt (viz obrázky A.2 až A.5, srovnej obrázek 4.3 na straně 59, kde jsou radiobuttony viditelné).

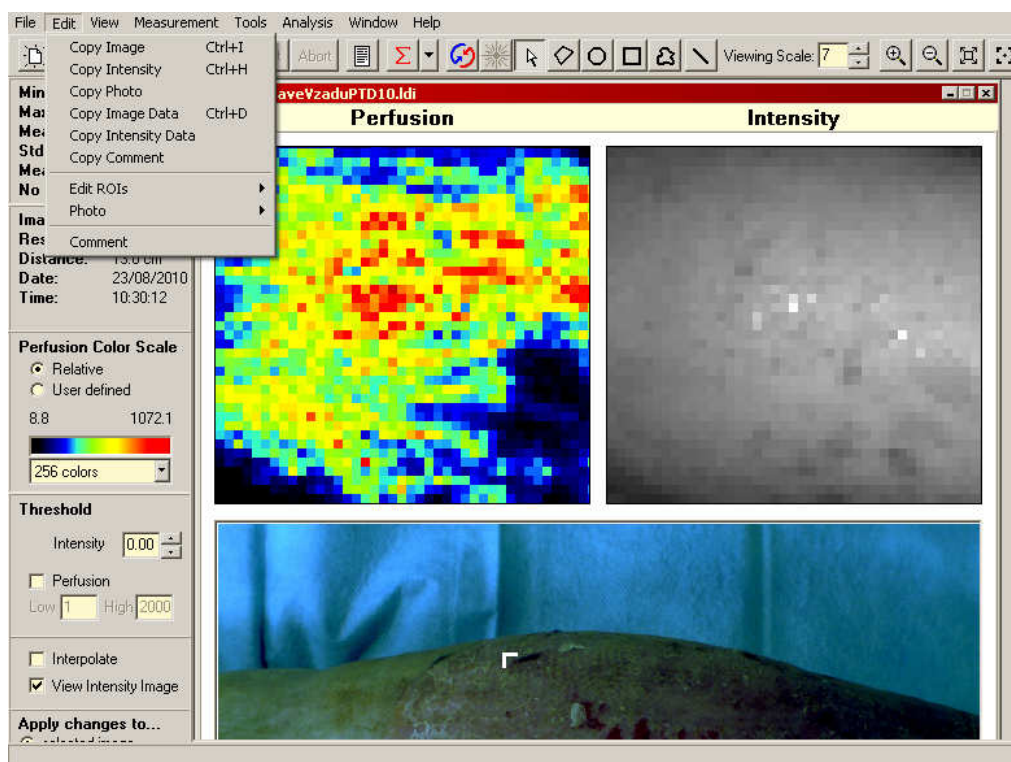


Obrázek A.1. Dialogové okno Tools → Options. . . programu LDPlwin 3.1.3.



Obrázek A.2. Okno programu LDPlwin 3.1.3 s rozbalenou nabídkou File a informační okno Properties.

2. Otevřeme všechny skeny *.ldi daného případu v LDPlwin 3.1.3. V případě, že sken má nastavenou oblast nebo oblasti zájmu (ROI), zrušíme ji (je) pomocí tlačítka Clear All v dialogovém okně, které se automaticky otevře se skenem. Dialogové okno poté zavřeme tlačítkem Close.
3. Je výhodné uspořádat všechna okna se skeny pomocí Window → Cascade.
4. V Control Panelu nastavíme v sekci Threshold hodnotu Intensity na 0.00, vypneme checkbox Interpolate, a v sekci Perfusion Color Scale vybereme radiobutton Relative, jak je ukázáno na obrázku A.4 na straně 99. V tom případě musí být hodnota No of sites rovna součinu hodnot uvedených v Image



Obrázek A.3. Okno programu LDPlwin 3.1.3 s rozbalenou nabídkou Edit.

Size. Chybné nastavení je předvedeno na obrázku A.5 na straně 100, kde je nastaven diskriminační práh na 0.50, a hodnota No of sites je menší než součin hodnot uvedených v Image Size o počet „diskriminovaných“ pixelů.

5. Pro každý sken (*.ldi soubor):

- (a) Otevřeme okno File → Properties... (viz obrázek A.2), hodnoty z něj opíšeme do stejnojmenného² souboru *.head s následující strukturou (je vhodné si tyto soubory připravit předem):

```
ImageSize[pixel]
Resolution
Distance[cm]
StepLength[mm]
Area[cm]
Date //
Time ::
RelativeTime 00:00:00
```

- (b) Zmáčkne druhou ikonu zprava Fit Photo na horní nástrojové liště (občas je třeba dva až třikrát), a nastavíme vhodně Viewing Scale rovněž

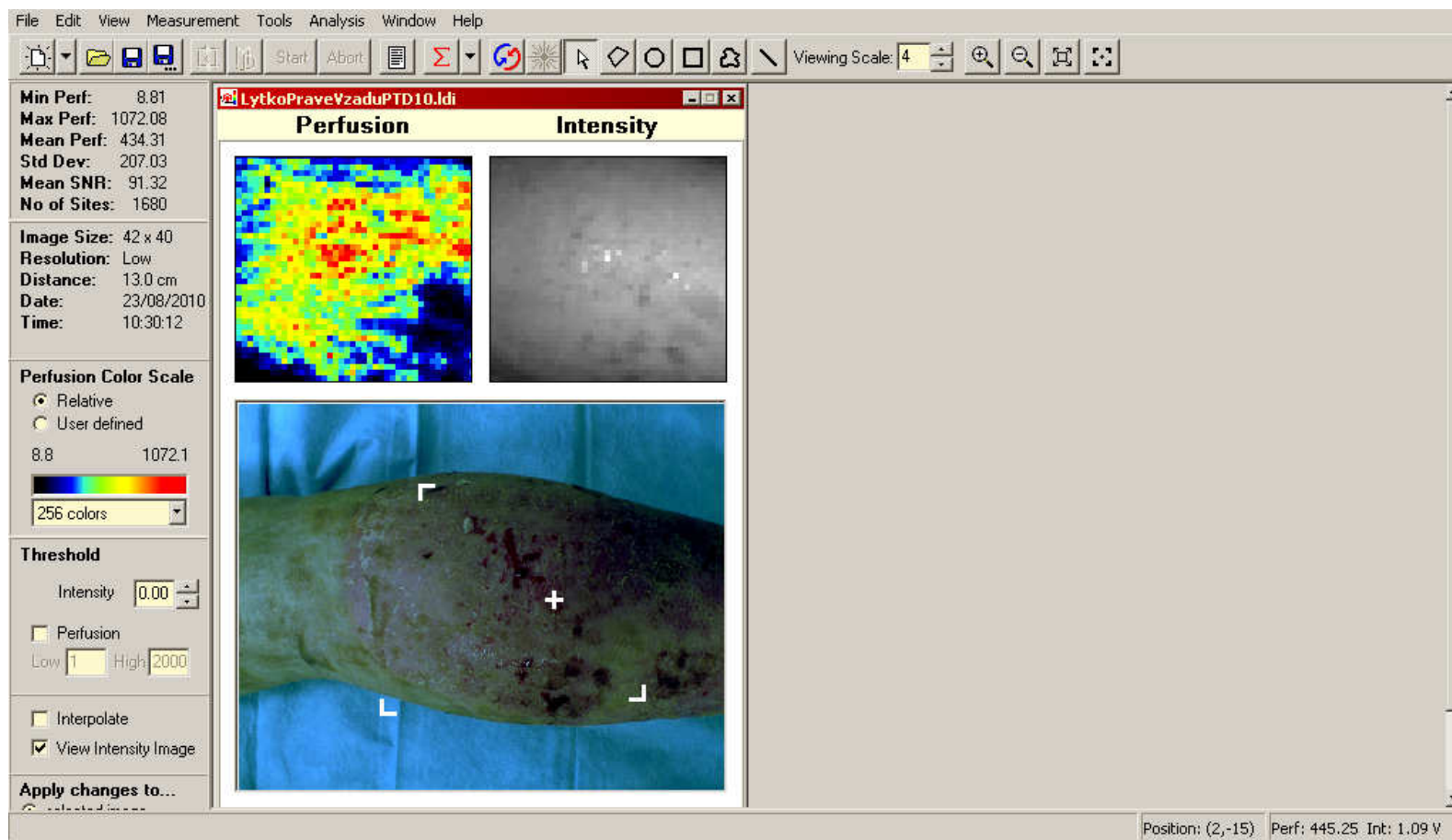
² Tj. se stejným základním jménem jako *.ldi soubor.

na horní nástrojové liště tak, aby pravý okraj okna se skenem zasahoval zhruba pod zoomovací ikony (za předpokladu, že levý okraj je na doraz k Control Panelu).

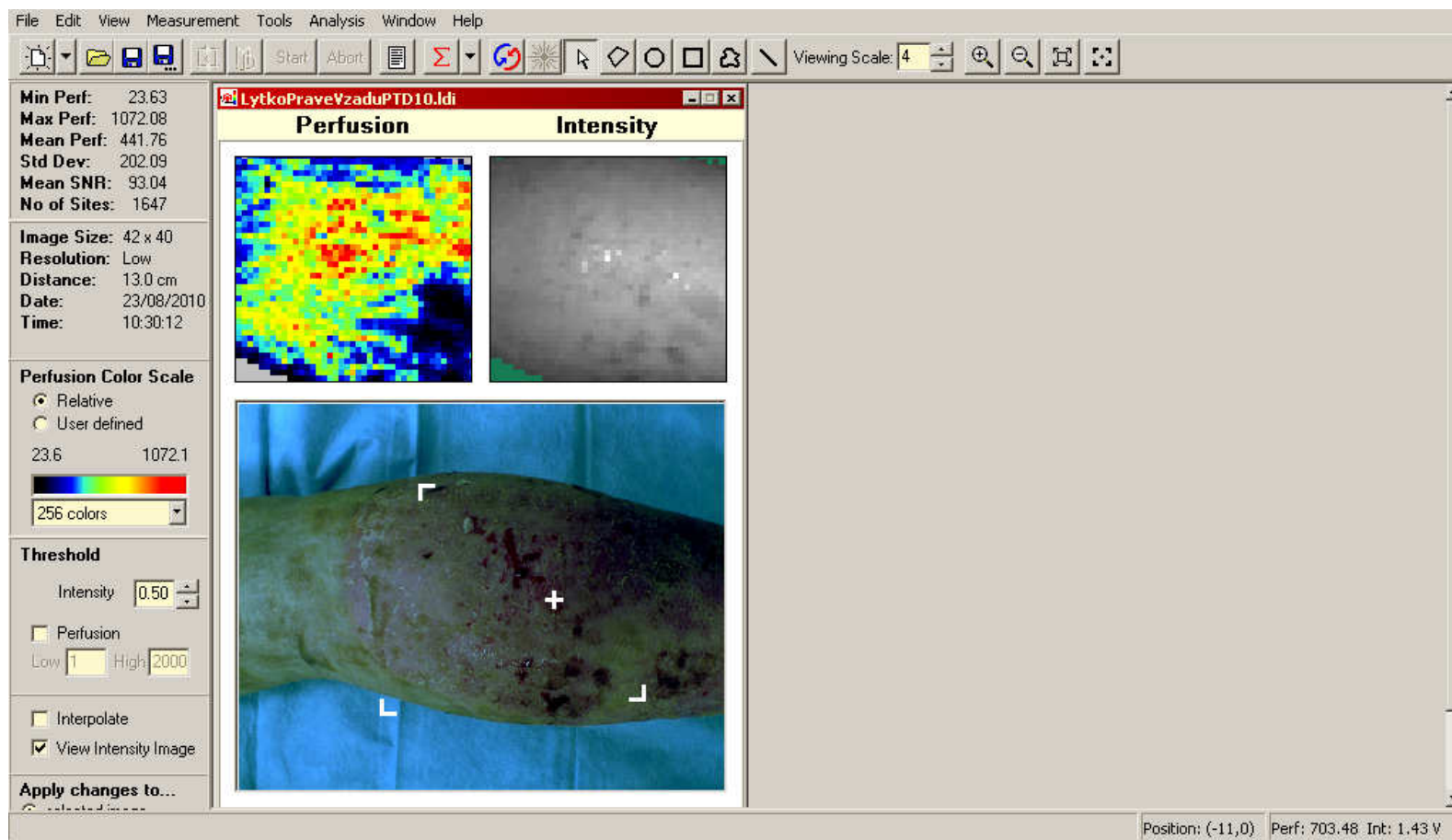
- (c) Pomocí Edit → Copy Image Data zkopírujeme perfuzní data do schránky (viz obrázek A.3), vložíme je do připraveného textového editoru (např. Notepadu), a uložíme do stejnojmenného souboru s příponou *.perf.
- (d) Pomocí Edit → Copy Intensity Data zkopírujeme intenzitní data do schránky (viz obrázek A.3), vložíme je do připraveného textového editoru (např. Notepadu), a uložíme do stejnojmenného souboru s příponou *.inty.
- (e) Pomocí Edit → Copy Photo zkopírujeme fotografii do schránky (viz obrázek A.3) a vložíme ji do připraveného obrazového editoru (např. Gimp). Rozměry vkládané fotografie by neměly přesáhnout 640×480 .³ Poté je třeba provést ořez fotografie, a uložit ji do stejnojmenného souboru s příponou *.png.⁴
- (f) Zavřeme sken s uložením změn (hlavně nulové hodnoty diskriminačního prahu). Je vhodné mít původní skeny s nastavenými ROI zálohované.
- (g) V případě, že použité editory automaticky připojují k názvu souborů extenzi .txt a/nebo místo desetinných teček ukládají desetinné čárky, použijeme pomocné skripty popsané v Příloze 4.

³ Je vhodné si připravit prázdný obrázek s těmito rozměry, v případě potřeby opakovat nastavení Viewing Scale podle bodu 5b.

⁴ V editoru Gimp 2.6.8 po vložení následuje Layer → Anchor Layer a Image → Autocrop Image.



Obrázek A.4. Okno programu LDPlwin 3.1.3 s načteným skenem a nulovým diskriminačním prahem intenzity.



Obrázek A.5. Okno programu LDPlwin 3.1.3 s načteným skenem a diskriminačním prahem intenzity 0.5.

Dodatek B

Bezpečnostní třídy laserů

K ochraně zdraví při práci s lasery sloužila od roku 1982 směrnice ministerstva zdravotnictví ČSR č. 61 o hygienických zásadách pro práci s lasery (Hygienické předpisy svazek 53/1982). Tuto směrnici nahradilo Nařízení vlády č. 480/2000 Sb., o ochraně zdraví před neionizujícím zářením (Sbírka zákonů, Česká republika, částka 139, str. 7582–7621). Zařazování laserů do tříd, výstražné texty a signalizace vymezuje § 4 a 5.

- I. třída** Lasery o výkonu menším než $0.4 \mu\text{W}$ a lasery zakrytované tak, že se záření laseru nedostane ven z krytu buď vůbec nebo zeslabené natolik, že jeho parametry odpovídají limitu přístupné emise pro laser třídy I, přičemž buď není možné kryt sejmout bez použití nástrojů, nebo při snímání krytu je vyzařování laseru včas automaticky přerušeno, zákaz snímání krytu musí být vyznačen;
- II. třída** Lasery s výkonem do 1 mW a zářivý tok nepřekračuje hodnotu 10^{-3} W , lasery vyzařující viditelné světlo, jejichž zářivý tok překračuje limity přístupné emise I. třídy;
- III. a) třída** Lasery s výkonem do 5 mW , v oblasti viditelného záření při spojitém režimu generace záření jde o lasery, jejichž zářivý tok nepřekračuje hodnotu $5 \times 10^{-3} \text{ W}$ a hustota zářivého toku nepřekračuje hodnotu $25 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$;
- III. b) třída** Lasery s výkonem do 500 mW , ochranné brýle, akustická signalizace, výstražná tabulka, světelná nebo akustická signalizace chodu, barva signálního světla musí být vybrána tak, aby světlo bylo viditelné i přes ochranné brýle. Lasery zařazené do třídy III. b) a IV. se zabezpečí proti uvedení do chodu zámkem, prostory určené pro jejich provoz se označí výstražnými tabulkami a zákazem vstupu nepovolaných osob. Z dráhy paprsku laseru se odstraní všechny předměty, na nichž by mohlo dojít k nekontrolovatelným odrazům paprsku, a paprsek se ukončí matným terčem s malým činitelem odrazu. Při provozu laseru se používají příslušné ochranné pomůcky (speciální brýle).

IV. třída Lasery s výkonem přesahující výkon 500 mW, platí stejná zabezpečení jako u III. b) třídy a navíc musí být umístěny do prostorů zabezpečených technickými prostředky tak, aby do nich byl zamezen vstup nepovolaných osob při chodu laseru, musí být použity odpovídající ochranné pomůcky, u vstupu do místnosti se umísťuje signalizace chodu laseru. U impulsních laserů se zajistí, aby byla při vypnutí přívodu elektrické energie vybita akumulovaná energie do zátěže.

Lasery, které mohou vyzařovat na více vlnových délkách, se zařazují do třídy odpovídající použití, při němž je nejvyšší riziko poškození zdraví.

Třída, do které je laser zařazen, s výjimkou laserů I. třídy, se vyznačí na štítku umístěném na laseru. Lasery zařazené do třídy II. a vyšší se opatří výstražným textem odpovídající příslušné třídě a upozorněním na nebezpečí poškození zdraví, tj. trojúhelník s jiskrou a nápisem „laserové záření“.

B.1. Technická dokumentace laserů (§6)

Ke každému laseru musí být připojena technická dokumentace, v níž musí být obsaženy tyto údaje:

- vlnová délka, druh laserového aktivního prostředí; pokud laser vyzařuje větší počet vlnových délek, uvedou se všechny vyzařované vlnové délky;
- režim generování laserového záření – spojitý, impulsní nebo impulsní s vysokou opakovací frekvencí;
- průměr svazku záření na výstupu laseru a jeho rozbíhavost, u sbíhavého svazku také jeho nejmenší průměr;
- u laserů generujících záření
 1. ve spojitém režimu největší zářivý tok;
 2. v impulsním režimu zářivá energie v jednom impulsu, nejdelší a nejkratší trvání jednoho impulsu, největší a nejmenší opakovací frekvence impulsů;
 3. v impulsním režimu s vysokou opakovací frekvencí totéž jako v bodu 2 a dále největší střední zářivý tok vystupujícího záření;
- zařazení laseru do třídy;
- údaje o jiných faktorech než záření, vznikajících při chodu laseru, které by mohly nepříznivě ovlivnit pracovní prostředí;
- návod ke správné montáži a instalaci, včetně stavebních a prostorových požadavků;
- návod k obsluze;
- výrobce, výrobní číslo laseru a rok jeho výroby, obchodní jméno a sídlo výrobce, místo podnikání fyzické nebo právnické osoby.

B.2. Některé důležité pojmy

Zpracováno podle [67].

Spojité režim generování laserového záření: režim generování laserového záření, při kterém laser vyzařuje nepřetržitě po dobu delší než 2.5×10^{-1} s.

Impulsní režim generování laserového záření: režim generování laserového záření, při kterém je zářivá energie laseru vyzařována ve formě impulsů ne delších než 2.5×10^{-1} s a s opakovací frekvencí rovnou 1 s^{-1} nebo nižší. Laser pracující v tomto režimu je označován jako impulzní laser.

Impulsní režim generování laserového záření s vysokou opakovací frekvencí: režim, při kterém laser generuje impulsy s opakovací frekvencí vyšší než 1 s^{-1} .

Laserové aktivní prostředí: prostředí se schopností zesilovat elektromagnetické záření na frekvenci laserového energetického přechodu.

Průměr svazku laserového záření: vzdálenost mezi protilehlými body svazku, v nichž je hustota zářivé energie (případně hustota zářivého toku) rovna $1/e$ násobku maximální hustoty zářivé energie (případně hustoty zářivého toku) výstupního svazku laseru.

Délka impulsu laserového záření: doba, po kterou zářivý tok laserového výstupního svazku přesahuje hodnotu odpovídající 0.5 násobku hodnoty maximální.

Nejvyšší střední zářivý tok laserového záření: nejvyšší hodnota středního zářivého toku dosažitelná daným laserem.

Nejvyšší přípustné hodnoty zářivého toku P_{\max} (případně zářivé energie Q_{\max}): hodnoty vystupujícího záření laserů, které jsou rozhodující pro záření laserů do I. třídy. Expozice těmto hodnotám nemůže způsobit poškození zdraví.

Hustota zářivé energie u (případně hustota zářivého toku Ψ) laserového záření: energie (případně výkon) laserového záření prošlý limitním otvorem dělený obsahem plochy limitního otvoru. Udává se v $\text{J} \cdot \text{m}^{-2}$, případně ve $\text{W} \cdot \text{m}^{-2}$.

Střední zářivý tok laserového záření: střední hodnota zářivého toku vystupujícího svazku laseru v daném časovém intervalu; při impulsním vyzařování se počítá z doby podstatně delší než je perioda opakování impulsů.

Opakovací frekvence impulsů: počet impulsů laserového záření za jednotku času.

Expozice záření: součin plošné hustoty zářivého toku ve $\text{W} \cdot \text{m}^{-2}$ a doby jeho působení.

Difúzní odraz: změna prostorové distribuce svazku záření odraženého do mnoha směrů povrchem nebo prostředím.

Limitní otvor: kruhový průřez, na kterém se pro účely hodnocení rizika laserového záření měří zářivá energie (zářivý tok) pro stanovení hustoty zářivé energie nebo hustoty zářivého toku. Pro spektrální oblast s vlnovými délkami 400 nm–700 nm má průměr příslušného limitního otvoru hodnotu 7 mm, pro ultrafialovou a blízkou infračervenou spektrální oblast – 1 mm, pro infračervenou spektrální oblast s vlnovou délkou větší než 1400 nm – 11 mm.

